

Europäisches **Patentamt** 

European **Patent Office**  Office européen des brevets

> REC'D 26 OCT 2004 PCT

Bescheinigung

Certificate

**Attestation** 

WIPO

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application conformes à la version described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr.

Patent application No. Demande de brevet nº

03090324.9

## PRIORITY

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

> Der Präsident des Europäischen Patentamts; Im Auftrag

For the President of the European Patent Office Le Président de l'Office européen des brevets p.o.

R C van Dijk

BEST AVAILABLE COPY



Anmeldung Nr:

Anmeldetag:

Application no.: 03090324.9

Date of filing: 30.09.03

Demande no:

Date de dépôt:

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

Bayer CropScience GmbH Brüningstrasse 50 65929 Frankfurt/Main ALLEMAGNE

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention: (Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung. If no title is shown please refer to the description. Si aucun titre n'est indiqué se referer à la description.)

Pflanzen mit erhöhter aktivität eines verzweigungsenzyms klasse 3

In Anspruch genommene Prioriät(en) / Priority(ies) claimed /Priorité(s) revendiquée(s) Staat/Tag/Aktenzeichen/State/Date/File no./Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation/International Patent Classification/Classification internationale des brevets:

A01H/

Am Anmeldetag benannte Vertragstaaten/Contracting states designated at date of filing/Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR LI

Bayer CropScience GmbH

## Pflanzen mit erhöhter Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3

## Beschreibung

5

10

15

20

Die vorliegende Erfindung betrifft Pflanzenzellen und Pflanzen, die genetisch modifiziert sind, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines pflanzlichen Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen führt. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Mittel und Verfahren zur Herstellung solcher Pflanzenzellen und Pflanzen. Derartige Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisieren eine modifizierte Stärke. Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die von den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisierte Stärke sowie Verfahren zur Herstellung dieser Stärke, als auch die Herstellung von Stärkederivaten dieser modifizierten Stärke.

Im Hinblick auf die zunehmende Bedeutung, die pflanzlichen Inhaltsstoffen als erneuerbaren Rohstoffquellen zur Zeit beigemessen wird, ist es eine der Aufgaben der biotechnologischen Forschung, sich um eine Anpassung dieser pflanzlichen Rohstoffe an die Anforderungen der verarbeitenden Industrie zu bemühen. Um eine Anwendung von nachwachsenden Rohstoffen in möglichst vielen Einsatzgebieten zu ermöglichen, ist es darüber hinaus erforderlich, eine große Stoffvielfalt zu erreichen.

Das Polysaccharid Stärke ist aus chemisch einheitlichen Grundbausteinen, den Glucosemolekülen, aufgebaut, stellt jedoch ein komplexes Gemisch unterschiedlicher Molekülformen dar, die Unterschiede hinsichtlich des Polymerisations- und des Verzweigungsgrades aufweisen und sich somit in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften stark voneinander unterscheiden. Man differenziert zwischen Amylosestärke, einem im wesentlichen unverzweigten Polymer aus α-1,4-glycosidisch verknüpften Glucoseeinheiten, und der Amylopektinstärke, einem verzweigten Polymer,

r.

bei dem die Verzweigungen durch das Auftreten zusätzlicher  $\alpha$ -1,6-glycosidischer Verknüpfungen zustande kommen. Ein weiterer wesentlicher Unterschied zwischen Amylose und Amylopektin liegt im Molekulargewicht. Während Amylose, je nach Herkunft der Stärke, ein Molekulargewicht von  $5x10^5-10^6$  Da besitzt, liegt das des Amylopektins zwischen  $10^7$  und  $10^8$  Da. Die beiden Makromoleküle können durch ihr Molekulargewicht und ihre unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften differenziert werden, was am einfachsten durch ihre unterschiedlichen Jodbindungseigenschaften sichtbar gemacht werden kann.

10 Amylose wurde lange als lineares Polymer, bestehend aus  $\alpha$ -1,4-glycosidisch verknüpften  $\alpha$ -D-Glucose-Monomeren, angesehen. In neueren Studien wurde jedoch die Anwesenheit von  $\alpha$ -1,6-glycosidischen Verzweigungspunkten (ca. 0,1%) nachgewiesen (Hizukuri und Takagi, Carbohydr. Res. 134, (1984), 1-10; Takeda et al., Carbohydr. Res. 132, (1984), 83-92).

15

20

25

30

Das Amylopektin stellt ein komplexes Gemisch aus unterschiedlich verzweigten Glucoseketten dar. Im Gegensatz zur Amylose ist das Amylopektin stärker verzweigt. Nach Lehrbuchangaben (Voet and Voet, Biochemistry, John Wiley & Sons, 1990) treten die  $\alpha$ -1,6-Verzweigungen durchschnittlich alle 24 bis 30 Glucosereste auf. Dies entspricht einem Verzweigungsgrad von ca. 3% - 4%. Die Angaben zum Verzweigungsgrad sind variabel und abhängig von der Herkunft (z.B. Pflanzenspezies, Pflanzensorte usw.) der jeweiligen Stärke. In typischen für die industrielle Stärkeproduktion verwendeten Pflanzen, wie z.B. Mais, Weizen oder Kartoffel, besteht die synthetisierte Stärke zu ca. 20% - 30% aus Amylose-Stärke und zu ca. 70% - 80% aus Amylopektin-Stärke.

Die funktionellen Eigenschaften der Stärke werden neben dem Amylose/Amylopektin-Verhältnis und dem Phosphatgehalt stark beeinflußt durch das Molekulargewicht, das Muster der Seitenkettenverteilung, den Gehalt an Ionen, den Lipid- und Proteingehalt, die mittlere Stärkekorngröße sowie die Stärkekornmorphologie etc. Als wichtige funktionelle Eigenschaften sind hierbei beispielsweise zu nennen die Löslichkeit, das Retrogradationsverhalten, das Wasserbindevermögen, die Filmbildungseigenschaften.

die Viskosität, die Verkleisterungseigenschaften, die Gefrier-Tau-Stabilität, die Säurestabilität, die Gelfestigkeit etc.. Auch die Stärkekorngröße kann für verschiedene Anwendungen von Bedeutung sein.

Verzweigungsenzyme, die auch mit der Bezeichnung "BE" (von Branching Enzyme; E.C. 2.4.1.18) abgekürzt werden, katalysieren die Einführung von  $\alpha$ -1,6-Verzweigungen in  $\alpha$ -1,4-Glukane. Verzweigungsenzyme und die sie codierenden Nuclein- bzw. Aminosäuresequenzen sind aus unterschiedlichsten Organismen, wie z.B. Bakterien, mikrobiellen Pilzen, Säugetieren, Algen und höheren Pflanzen bekannt. Da nur Pflanzen Stärke synthetisieren, 10 während die vorgenannten nicht-pflanzlichen Organismen (z.B. Bakterien, Pilze und Säugetiere) Glycogen synthetisieren, können die betreffenden Verzweigungsenzyme, die an der Synthese des jeweiligen Polymers beteiligt auch in Glycogen-Verzweigungsenzyme Verzweigungsenzyme unterteilt werden. Bei den Pflanzen handelt es sich daher um Stärke-Verzweigungsenzyme, die insbesondere in älterer Literatur häufig auch als Q-15 Enzyme bezeichnet werden.

In allen Pflanzenspezies, die bisher untersucht wurden, können die beschriebenen Verzweigungsenzyme zwei unterschiedlichen Klassen zugeordnet werden (Burton et al., 1995, Plant Journal 7, 3-15; Mizuno et al., 2001, Plant Cell Physiol. 42(4), 349-357). Die Zuordnung zu diesen Klassen, teilweise in der Literatur mit A bzw. 2, und B bzw. 1 bezeichnet, beruht auf dem Vergleich von abgeleiteten Proteinsequenzen.

20

25

30

Da in der Vergangenheit unterschiedliche Nomenklaturen zur Bezeichnung und Klassifizierung von Verzweigungsenzymen verwendet wurden, haben Smith-White und Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) zur Vereinheitlichung dieser Nomenklatur ein System vorgeschlagen, wobeiin welchem die Zuordnung zu den beiden Klassen von pflanzlichen Verzweigungsenzymen auch auf dem Vergleich von abgeleiteten Proteinsequenzen beruht (Larsson et al., 1998, Plant Mol. Biol. 37, 505-511). Diejenigen pflanzlichen Verzweigungsenzyme, deren Aminosäuresequenz einen höheren Grad an Identität mit derjenigen des Verzweigungsenzyms I aus Mais (GenBank Acc: D11081) aufweisen, sollen nach dieser Nomenklatur als

Verzweigungsenzyme, deren sie codierende Aminosäuresequenz einen höheren Grad an Identität mit derjenigen des Verzweigungsenzyms II aus Mais (GenBank Acc: AF072725) aufweisen, sollen als Verzweigungsenzym der Klasse 2 bezeichnet werden. Die Bezeichnung der Genprodukte codierend für Verzweigungsenzyme soll nach der Nomenklatur von Smith-White und Preiss als Erweiterung in die bereits bestehende Nomenklatur mittels E.C. Nummern aufgenommen werden. Für die beiden Klassen ergeben sich somit sogenannte GPN (Gen Produkt Nummer) Codes und zwar GPN 2.2.4.1.18:1 für Verzweigungsenzyme der Klasse 1 und GPN 2.2.4.18:2 für Verzweigungsenzyme der Klasse 2.

5

10

25

30

Die folgenden pflanzlichen- oder Stärke-Verzweigungsenzyme gehören daher, nach der von Smith-White und Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) vorgeschlagenen Nomenklatur zur Klasse 1 (GPN 2.2.1.18:1):

BE I aus Aegilops tauschii (GenBank Acc: AF525746), BE I aus Gerste (GenBank Acc: AY304541), BE aus Tapioka (GenBank Acc: X77012), BE I (häufig auch als BE 1 bezeichnet) aus Reis (GenBank Acc: D11082, D10752, D10838), BE 3 aus Bohne (GenBank Acc: AB029549), BE II aus Erbse (GenBank Acc: X80010), BE aus Hirse (GenBank Acc: AF169833), BE I aus Kartoffel (GenBank Acc: Y08786, X69805), BE aus Weizen (GenBank Acc: Y12320, AF076679, AF002820) und BE I aus Mais (GenBank Acc: D11081, AAO20100, E03435, AY176762, U17897, AF072724).

Aminosäuresequenzen zu der Aminosäuresequenz des Verzweigungsenzyms I aus Mais (GenBank Acc: D11081) jeweils eine Identität von mehr als 60% auf.

Verzweigungsenzyme, die nach der von Smith-White and Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) vorgeschlagenen Nomenklatur zur Klasse 2 (GPN 2.2.1.18:2) gehören, sind z.B. BE IIa aus *Aegilops tauschii* (GenBank Acc: AF338431, WO 9914314), BE2-1 und BE2-2 aus *Arabidosis thaliana* (BE2-1 GenBank Acc: NM\_129196 CAA04134; BE2-2 GenBank Acc: CAB82930, NM\_120446), BE IIa und BE IIb aus Gerste (BE IIa GenBank Acc: AF064560; BE IIb GenBank Acc: AF064561), BE III aus Süßkartoffel (GenBank Acc: AB071286), BE III und BE IV (häufig auch als BE 3

bzw. BE 4 bezeichnet) aus Reis (BE III GenBank Acc: D16201; BE IV GenBank Acc: AB023498), BE 1 aus Bohne (GenBank Acc: AB029548), BE I aus Erbse (GenBank Acc: X80009), BE IIb aus Hirse (GenBank Acc: AY304540), BE II aus Kartoffel (GenBank Acc: AJ000004, AJ011885, AJ011888, AJ011889, AJ011890), BE II bzw. BE IIa aus Weizen (GenBank Acc: Y11282, AF286319, AF338432, U66376) und BE II, bzw. BE IIb aus Mais (BE II GenBank Acc: AAA18571, T02981; BE IIb GenBank Acc: AF072725, L08065). Dabei weisen die für verschiedene Verzweigungsenzyme der Klasse 2 codierenden Aminosäuresequenzen zu der Aminosäuresequenz des Verzweigungsenzyms IIb aus Mais (GenBank Acc: AF072725) jeweils eine Identität von mehr als 60% auf.

Pflanzliche- oder Stärke-Verzweigungsenzyme gehören zur Familie der alphaamylolytischen Enzyme (Svensson, 1994, Plant Molecular Biology 25, 141-157; Jespersen et al., 1991, Biochem J. 280, 51-55) und weisen bezüglich ihrer Aminosäuresequenz vier konservierte Domänen auf (Baba et al., 1991, Biochem. Biophys. Res. Commun. 181(1), 87-94; Kuriki et al., 1996, J. of Protein Chemistry 15(3), 305-313).

Auf mathematischen Berechnungen, abgeleitet von experimentellen Daten, wie z.B. Proteinkristallstrukturen, basierende Strukturvorhersagen (Pfam: http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN?) ergeben, dass alle bisher bekannten Verzweigungsenzyme aus höheren Pflanzen zwei Domänen aufweisen: eine Alpha-Amylase-Domäne und eine Iso-Amylase-Domäne. Dabei liegt die Iso-Amylase-Domäne näher am N-Terminus des Proteins, als die Alpha-Amylase Domäne.

25

30

5

10

15

20

Bekannt sind z.B. Pflanzen, die auf Grund einer Mutation eine reduzierte Aktivität eines Verzweigungsenzyms der Klasse 2 aufweisen. Dazu- gehören die sogenannten "amylose extender" (ae) Mutanten aus Mais (Stindard et al., 1993, Plant Cell 5, 1555-1566; Boyer und Preiss, 1978, Biochem. Biophys. Res. Commun. 80, 169-175) und Reis (Mizuno et al., 1993, J. Biol. Chem. 268, 19084-19091), sowie die "rugosus" (r) Mutation in Erbse (Smith, 1988, Planta 175, 270-279; Bhattacharyya et al., 1990, Cell 60, 115-122). Alle diese Mutanten zeichnen sich dadurch aus, dass sie eine Stärke

synthetisieren, die einen erhöhten Anteil an Amylose aufweist im Vergleich zu Stärke aus entsprechenden Pflanzen, die diese Mutation nicht aufweisen.

Ferner sind genetisch modifizierte Kartoffelpflanzen beschrieben, bei welchen die Aktivität eines BE I (Klasse 1) Verzweigungsenzyms (Kossmann et al., 1991, Mol Gen Genet 230, 39-44; Safford et al., 1998, Carbohydrate Polymers 35, 155-168), bzw. die Aktivität eines BEII (Klasse 2) Verzweigungsenzyms (Jobling et al., 1999, The Plant Journal 18), bzw. die Aktivität eines BEI und BEII Verzweigungsenzyms (Schwall et al., 2000, Nature Biotechnology 18, 551- 554, Jobling et al., 2003, Nature Biotechnology 21, 77-80) reduziert sind. 10

Bisher konnten alle pflanzlichen Verzweigungsenzyme einer der beiden oben beschriebenen Klassen zugeordnet werden. Pflanzenzellen oder Pflanzen, die eine erhöhte Aktivität eines Verzweigungsenzyms aufweisen, welches nicht diesen Klassen zugeordnet werden kann, sind nicht bekannt.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zu Grunde, modifizierte Stärken, neue Pflanzenzellen und/oder Pflanzen, die eine solche modifizierte sowie Verfahren zur Erzeugung besagter Pflanzen und/oder synthetisieren, Pflanzenzellen zur Verfügung zu stellen.

Diese Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen bezeichneten Ausführungsformen gelöst.

Somit betrifft die vorliegende Erfindung genetisch modifizierte Pflanzenzellen und 25 Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzenzellen oder Pflanzen eine erhöhte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen aufweisen.

Ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Pflanzenzelle oder eine Pflanze, die genetisch modifiziert ist, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung

30

5

15

20

der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt, im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pfalnzen.

- Die genetische Modifikation kann dabei jede genetische Modifikation sein, die zu einer Erhöhung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen oder Wildtyp-Pflanzen.
- Der Begriff "Wildtyp-Pflanzenzelle" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass es sich um Pflanzenzellen handelt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Pflanzenzellen dienten, d.h. deren genetische Information, abgesehen von der eingeführten genetischen Modifikation, der einer erfindungsgemäßen Pflanzenzelle entspricht.

Der Begriff "Wildtyp-Pflanze" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass es sich um Pflanzen handelt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Pflanzen dienten, d.h. deren genetische Information, abgesehen von der eingeführten genetischen Modifikation, der einer erfindungsgemäßen Pflanze entspricht.

Der Begriff "entsprechend" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass beim Vergleich von mehreren Gegenständen die betreffenden Gegenstände, die miteinander verglichen werden, unter gleichen Bedingungen gehalten wurden. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bedeutet der Begriff "entsprechend" im Zusammenhang mit Wildtyp-Pflanzenzelle oder Wildtyp-Pflanze, dass die Pflanzenzellen oder Pflanzen, die miteinander verglichen werden, unter gleichen Kulturbedingungen aufgezogen wurden und dass sie ein gleiches (Kultur-) Alter aufweisen.

25

15

20

Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen weisen eine erhöhte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 auf im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen.

Der Begriff "erhöhte Aktivität" bedeutet dabei im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Erhöhung der Expression endogener Gene, die Verzweigungsenzyme Klasse 3 codieren und/oder eine Erhöhung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 Protein in den Zellen und/oder eine Erhöhung der enzymatischen Aktivität von Verzweigungsenzymen Klasse 3 in den Zellen.

10

15

20

25

30

Die Erhöhung der Expression kann beispielsweise bestimmt werden durch Messung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Transkripten, z.B. durch Northern-Blot-Analyse oder RT-PCR. Eine Erhöhung bedeutet dabei vorzugsweise eine Erhöhung der Menge an Transkripten im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Zellen um mindestens 50%, insbesondere um mindestens 70%, bevorzugt um mindestens 85% und besonders bevorzugt um mindestens 100%.

Die Erhöhung der Menge an Protein eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, die eine erhöhte Aktivität dieser Proteine in den betreffenden Pflanzenzellen zur Folge hat, kann beispielsweise bestimmt werden durch immunologische Methoden wie Western-Blot-Analyse, ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) oder RIA (Radio Immune Assay). Eine Erhöhung bedeutet dabei vorzugsweise eine Erhöhung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 Protein im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Zellen um mindestens 50%, insbesondere um mindestens 70%, bevorzugt um mindestens 85% und besonders bevorzugt um mindestens 100%.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird unter dem Begriff "Verzweigungsenzym"" ( $\alpha$ -1,4-Glukan:  $\alpha$ -1,4-Glukan 6-Glycosyltransferase, E.C. 2.4.1.18) ein Protein verstanden, das eine Transglycosylierungsreaktion katalysiert, in der  $\alpha$ -1,4-Verknüpfungen eines  $\alpha$ -1,4-Glukandonors hydrolysiert und die dabei freigesetzten  $\alpha$ -1,4-Glukanketten auf eine  $\alpha$ -1,4-Glukanakzeptorkette transferiert und dabei in  $\alpha$ -1,6-Verknüpfungen überführt werden. Insbesondere soll im Rahmen der vorliegenden

Erfindung unter dem Begriff "Verzweigungsezym" ein pflanzliches Verzweigungsenzym. d.h. ein Stärke-Verzweigungsenzym verstanden werden.

Nachgewiesen werden kann die Aktivität eines Verzweigungsenzyms z.B. mit Hilfe der nativen Acrylamidgelelektrophorese. Dabei werden Proteine zunächst elektrophoretisch aufgetrennt und die entsprechenden Gele nach Inkubation in Puffern, enthaltend eine lineare α-1,4-Glukan Ketten synthetisierende Aktivität (z.B. Stärkephosphorylase a) und deren Substrat (z.B. Glukose-6-Phosphat), mit Jod gefärbt (Kimihiko et al., 1980. Analytical Biochemistry 108, 16-24).

10 Weiterhin können Verzweigungsenzyme in mikrobiellen Organismen, wie z.B. dem E. coli Stamm KV832 (Kiel et al., 1987 Mol. Gen. Genet 207: 294-301), die keine verzweigten α-Glukane synthetisieren, exprimiert werden. Wird durch die Expression eines fremden Gens in solchen Stämmen (z.B. *E. coli* KV832) eine Aktivität eines 🦠 Verzweigungsenzyms in den mikrobiellen Organismus eingeführt, so kann die 15 Verzweigungsenzymaktivität z.B. durch Bedampfung von Kolonien dieser Organismen mit Jod nachgewiesen werden. Kolonien, die lineare  $\alpha$ -1,4-Glukane synthetisieren. färben in diesem Nachweis blau, während Kolonien, welche durch Expression einer zusätzlichen enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms verzweigte Glukane synthetisieren, nach Bedampfung mit Jod rötlich braun färben. Auch die Expression von 20 Proteinen in Phosphoglucomutasemutanten von E. coli ist zur Identifizierung einer Verzweigungsenzymaktivität von entsprechenden Proteinen möglich (Buettcher et al., 1999, Biochem. Biophys. Acta 1432, 406-412).

Eine weitere Möglichkeit, Verzweigunsenzymaktivität von Proteinen nachzuweisen, ist die Verwendung einer Phosphorylase a stimulierten Reaktion und die anschließende Auftrennung der Produkte mittes Dünnschichtchromatographie (Almstrupp et al., 2000, Analytical Biochemistry 286, 297-300).

Ebenfalls nachgewiesen werden können Verzweigungsenzymaktivitäten mit Hilfe der bei Guan und Preiss (1993, Plant Physiol. 102, 1269- 1273) und Kuriki et al. (1996, J. of Protein Chemistry 15, 305-313) beschriebenen Methoden.

25

30

5

Unter dem Begriff "Verzweigungsenzym Klasse 3" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Verzweigungsenzym verstanden werden, das mit der in Seg ID No-4-angegebenen Aminosäuresequenz einen höheren Grad-an Identität aufweist, als mit der des Verzweigungsenzyms BE I aus Mais (GenBank Acc: D11081) oder mit der des Verzweigungsenzyms BE IIb aus Mais (GenBank Acc: AF072725). Vorzugsweise stammt das Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum.

5

10

15

25

30

In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weisen Aminosäuresequenzen codierend Verzweigungsenzyme der Klasse 3 eine Identität mit der in SEQ ID No 4 angegebenen Sequenz von mindestens 60%, insbesondere von mindestens 70%, bevorzugt von mindestens 80% und besonders bevorzugt von mindestens 90% und insbesondere bevorzugt von mindestens 95% auf.

Verzweigungsenzyme der Klasse 3 weisen erfindungsgemäß eine Iso-Amylase-Domäne (Pfam acc.: Pf02922) und eine Alpha-Amylase-Domäne (Pfam acc: Pf00128) auf. Erfindungsgemäß sind die Iso-Amylase Domäne und die Alpha-Amylase Domäne in Verzweigungsenzyme codierenden Aminosäuresequenzen durch das Vorhandensein weiterer Aminosäuren, die diesen beiden Domänen nicht zugehören, voneinander getrennt.

20 Erfindungsgemäße Verzweigungsenzyme Klasse 3 zeichnen sich dadurch aus, dass die Iso-Amylase Domäne von der Alpha-Amylase Domäne durch eine größere Anzahl an Aminosäuren voneinander getrennt ist, als die Iso-Amylase Domäne und die Alpha-Amylase Domäne von Verzweigungsenzymen der Klassen 1 und 2.

Erfindungsgemäße Verzweigungsenzyme Klasse 3 zeichnen sich bezüglich ihrer Aminosäuresequenz bevorzugt dadurch aus, dass sie zwischen der Iso-Amylase Domäne und der Alpha-Amylase Domäne mindestens 70, bevorzugt mindestens 100, besonders bevorzugt mindestens 130 und insbesondere bevorzugt mindestens 198 Aminosäuren aufweisen. In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das C-terminale Ende der Iso-Amylase Domäne vom N-terminalen Anfang der Alpha-Amylase Domäne bei der für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Aminosäuresequenz durch 70 bis 198, bevorzugt durch 100 bis 198, besonders

bevorzugt durch 130-bis-198-und insbesondere besonders bevorzugt-durch 150-bis 198
Aminosäuren voneinander getrennt.

Mit Hilfe der Pfam-Datenbank (Batemann et al., 2002, Nucleic Acids Research 30, 276-280; 5 erreichbar über http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/, http://www.cgb.ki.se/Pfam/; http://pfam.jouy.inra.fr/ oder http://pfam.wustl.edu/) ist es dem Fachmann möglich, zu ermitteln, ob Aminosäuresequenzen bereits bekannte Domänen (z.B. eine Iso-Amylase und/oder eine Alpha-Amylase Domäne) aufweisen. Pfam ist eine von Experten zusammengestellte Datenbank, die Aminosäuresequenzen in sogenannte Familien einteilt. Die Zuordnung einer Aminosäuresequenz zu einer 10 Familie erfolgt dabei auf Basis von sogenannten Domänen, die als funktionelle und strukturelle Bausteine von Proteinen anzusehen sind. Eine Domäne ist definiert als strukturelle Einheit oder mehrfach auftretende Aminosäuresequenz-Einheit, die ins Proteinen unterschiedlichster Funktion vorkommen kann. Neben Informationen betreffend die Aminosäuresequenz bekannter Proteine werden auch weitere 15 Erkenntnisse (z.B. Nachweis der enzymatischen Aktivität, Kristallstrukturdaten) für die Zuordnung eines Proteins zu einer Familie herangezogen. Jeder Familie wird ein Name und eine "accession" Nummer (z.B. Name: Isoamylase\_N, acc:PF02922) zugewiesen. Bestandteil jeder Familie in der Pfam-Datenbank ist u.a. ein sogenanntes "seed 20 alignment". Das ..seed alignment" enthält die Aminosäuresequenzen repräsentativen Proteinen einer Familie. Ausgehend von "seed alignments" wird ein sogenanntes Profil HMM ("profile Hidden Markov Model"; Übersichtsartikel in: Durbin et al., "Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids", Cambridge University Press, 1998, ISBN 0-521-62041-4 ) durch Verwendung der HMMER 2 Software (frei erhältlich unter http://hmmer.wustl.edu/) erzeugt. Die 25 erzeugten HMMs haben Namen und sind spezifisch für die entsprechend zugeordneten Domänen in der Pfam-Datenbank abgelegt. HMMs beruhen im Gegensatz zu klassischen, multiplen "alignments" (z.B. hergestellt mit dem Program Clustal W oder dem Algorhytmus Blossum62) auf einer validen statistischen Theorie (Bayes-Theorie der bedingten Wahrscheinlichkeit, Markoff-Ketten) und ermöglichen die Zuordnung 30 einer Abfrage Sequenz (Query) zu einer Familie basierend auf der Verwendung von positionsspezifischen Bewertungsmatrizen. Dieses ermöglicht eine Zuordnung auch

dann, wenn erhebliche Unterschiede in den Aminosäuresequenzen zwischen Abfrage-Sequenz (Query) und einer Vergleichs-Sequenz (z.B. Aminosäuresequenzeintrag in einer Datenbank) vorliegen.

- Mittels eines Vergleiches der in der Pfam-Datenbank gespeicherten HMMs mit Aminosäuresequenzen, die als sogenannte Abfrage-Sequenz (Query) eingegeben werden, kann somit die Domänen Struktur der betreffenden Aminosäuresequenz ermittelt werden (z.B. unter: http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN?).
- Unter dem Begriff "Iso-Amylase-Domäne" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden 10 Erfindung eine Pfam Iso-Amylase-Domäne (acc: Pf02922) verstanden werden. Dabei ist das diese Pfam Iso-Amylase-Domäne beschreibende HMM mit der Software HMMER 2 [2.3.1], ausgehend von einem "seed alignment", das die in Tabelle 1 dargestellten Aminosäureseguenzen enthält, zu erzeugen. Das "seed alignment" wird im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung mittels des Programs ClustalW 15 (Thompson et al., Nucleic Acids Research 22 (1994), 4673-4680; siehe unten) erzeugt. Zur Erstellung des entsprechenden HMMs sind folgende Einstellungen zu wählen: Build Method of HMM: hmmbuild -F HMM\_ls, hmmcalibrate -seed 0 HMM\_ls; Gathering cutoff: 2.3 2.3; Trusted cutoff: 2.3 2.2; Noise cutoff: 2.1 2.1). Weitere Angaben zur Erstellung des HMMs der Pfam Iso-Amylase-Domäne (acc: Pf02922) sind in Tabelle 3 20 dargestellt.

Unter dem Begriff "Alpha-Amylase-Domäne" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Pfam Alpha-Amylase-Domäne (acc: Pf00128), verstanden werden. Dabei ist das diese Pfam Alpha-Amylase-Domäne beschreibende HMM mit der Software HMMER 2 [2.3.1], ausgehend von einem "seed alignment", das die in Tabelle 2 dargestellten Aminosäuresequenzen enthält, zu erzeugen. Das "seed alignment" wird dabei mittels HMM\_simulated\_annealing (http://www.psc.edu/general/software/packages/hmmer/manual/node11.html#SECTION 00321000000000000000) erzeugt. Zur Erstellung des entsprechenden HMM sind folgende Einstellungen zu wählen: Build Method of HMM: hmmbuild –F HMM\_ls, hmmcalibrate –seed 0 HMM\_ls; Gathering cutoff: -82.0 –82.0; Trusted cutoff: -81.7 –

25

30

81.7; Noise cutoff: -82.7 –82.7). Weitere Angaben zur Erstellung des HMMs der Pfam Alpha-Amylase-Domäne (acc: Pf00128) sind in Tabelle 4 dargestellt.

- Unter dem Begriff "Verzweigungsenzym Klasse 3 Gen" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Nucleinsäuremolekül (cDNA, DNA) verstanden werden, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3, vorzugsweise ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum, codiert.
- 10 Eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft eine erfindungsgemäße genetisch modifizierte Pflanzenzelle oder eine erfindungsgemäße genetisch modifizierte Pflanze, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanzenzelle bzw. in das Genom der Pflanze besteht.

15

In diesem Zusammenhang bedeutet der Begriff "genetische Modifikation" das Einführen von homologen und/oder heterologen fremden Nucleinsäuremolekülen in das Genom einer Pflanzenzelle oder in das Genom einer Pflanze, wobei besagtes Einführen dieser Moleküle zur Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.

- Durch Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls sind die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen in ihrer genetischen Information verändert. Das Vorhandensein oder die Expression des fremden Nucleinsäuremoleküls führt zu einer phänotypischen Veränderung. "Phänotypische" Veränderung bedeutet dabei vorzugsweise eine meßbare Veränderung einer oder mehrerer Funktionen der Zellen. Beispielsweise zeigen die genetisch modifizierten erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die genetisch modifizierten erfindungsgemäßen Pflanzen aufgrund des Vorhandenseins oder bei Expression des eingeführten Nucleinsäuremoleküls eine Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3.
- 30 Unter dem Begriff "fremdes Nukleinsäuremolekül" versteht man im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein solches Molekül, das entweder natürlicherweise in entsprechenden Wildtyp-Pflanzenzellen nicht vorkommt, oder das in der konkreten

räumlichen Anordnung nicht natürlicherweise in Wildtyp-Pflanzenzellen vorkommt oder das an einem Ort im Genom der Wildtyp-Pflanzenzelle lokalisiert ist, an dem es natürlicherweise nicht vorkommt. Bevorzugt ist das fremde Nukleinsäuremolekül ein rekombinantes Molekül, das aus verschiedenen Elementen besteht, deren Kombination oder spezifische räumliche Anordnung natürlicherweise in pflanzlichen Zellen nicht auftritt.

Prinzipiell kann das fremde Nucleinsäuremolekül jedes beliebige Nucleinsäuremolekül sein, das in der Pflanzenzelle oder Pflanze eine Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 bewirkt.

10

5

Unter dem Begriff "Genom" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung die Gesamtheit des in einer pflanzlichen Zelle vorliegenden Erbmaterials verstanden werden. Dem Fachmann ist bekannt, dass neben dem Zellkern auch andere Kompartimente (z.B. Plastiden, Mitochondrien) Erbmaterial enthalten.

15

20

25

30

In einer weiteren Ausführungsform sind die erfindungsgemäßen Pflanzezellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen dadurch gekennzeichnet, dass das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert, bevorzugt ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzen einer Spezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform codiert das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 mit der in SEQ ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz.

Für die Einführung von DNA in eine pflanzliche Wirtszelle stehen eine Vielzahl von Techniken zur Verfügung. Diese Techniken umfassen die Transformation pflanzlicher Zellen mit T-DNA unter Verwendung von Agrobacterium tumefaciens oder Agrobacterium rhizogenes als Transformationsmittel, die Fusion von Protoplasten, die Injektion, die Elektroporation von DNA, die Einbringung der DNA mittels des biolistischen Ansatzes sowie weitere Möglichkeiten.

Die Verwendung der Agrobakterien-vermittelten Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in EP 120516; Hoekema, IN: The Binary Plant Vector System Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblasserdam (1985), Chapter V; Fraley et al., Crit. Rev. Plant Sci. 4, 1-46 und bei An et al. EMBO J. 4, (1985), 277-287 beschrieben worden. Für die Transformation von Kartoffel, siehe z.B. Rocha-Sosa et al., EMBO J. 8, (1989), 29-33.).

5

10

15

20

25

30

Auch Transformation monokotyler Pflanzen mittels auf Agrobakterium ' Transformation basierender Vektoren wurde beschrieben (Chan et al., Plant Mol. Bjol. 22, (1993), 491-506; Hiei et al., Plant J. 6, (1994) 271-282; Deng et al, Science in China 33, (1990), 28-34; Wilmink et al., Plant Cell Reports 11, (1992), 76-80; May et al., Bio/Technology 13, (1995), 486-492; Conner und Domisse, Int. J. Plant Sci. 153 (1992), 550-555; Ritchie et al, Transgenic Res. 2, (1993), 252-265). Alternatives System zur Transformation von monokotylen Pflanzen ist die Transformation mittels des biolistischen Ansatzes (Wan und Lemaux, Plant Physiol. 104, (1994), 37-48; Vasil et al., is Bio/Technology 11 (1993), 1553-1558; Ritala et al., Plant Mol. Biol. 24, (1994), 317-325; et al., Theor. Appl. Genet. 79, (1990).625-631). Spencer die Protoplastentransformation, die Elektroporation von partiell permeabilisierten Zellen, die Einbringung von DNA mittels Glasfasern, Insbesondere die Transformation von Mais wird in der Literatur mehrfach beschrieben (vgl. z. B. WO95/06128, EP0513849, EP0465875, EP0292435; Fromm et al., Biotechnology 8, (1990), 833-844; Gordon-Kamm et al., Plant Cell 2, (1990), 603-618; Koziel et al., Biotechnology 11 (1993), 194-200; Moroc et al., Theor. Appl. Genet. 80, (1990), 721-726).

Auch die erfolgreiche Transformation anderer Getreidearten wurde bereits beschrieben, z.B. für Gerste (Wan und Lemaux, s.o.; Ritala et al., s.o.; Krens et al., Nature 296, (1982), 72-74) und für Weizen (Nehra et al., Plant J. 5, (1994), 285-297). Alle vorstehenden Methoden sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung geeignet.

Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen lassen sich von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen unter anderem dadurch unterscheiden, dass sie ein fremdes Nucleinsäuremolekül enthalten, das natürlicherweise in Wildtyp-Planzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt oder

5

10

15

20

25

30

erfindungsgemäßen

dadurch, dass ein solches Molekül an einem Ort im Genom der erfindungsgemäßen --Pflanzenzelle oder im Genom-der-erfindungsgemäßen Pflanze integriert vorliegt; andem es bei Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt, d.h. in einer anderen genomischen Umgebung. Ferner lassen sich derartige erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen dadurch unterscheiden, dass sie mindestens eine Kopie des fremden Nucleinsäuremoleküls stabil integriert in ihr Genom enthalten, gegebenenfalls zusätzlich natürlicherweise in den Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen zu vorkommenden Kopien eines solchen Moleküls. Handelt es sich bei dem (den) in die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen eingeführten fremden Nucleinsäuremolekül(en) um zusätzliche Kopien zu bereits natürlicherweise in den Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorkommenden Molekülen, so lassen sich die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen insbesondere dadurch unterscheiden, dass diese zusätzliche(n) Kopie(n) an Orten im Genom lokalisiert ist (sind), an denen sie bei Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt (vorkommen). Dies läßt sich beispielsweise mit Hilfe einer Southern Blot-Analyse nachprüfen. Weiterhin lassen sich die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorzugsweise durch mindestens eines der folgenden Merkmale unterscheiden: Ist das eingeführte fremde Nucleinsäuremolekül heterolog in Bezug auf die Pflanzenzelle oder Pflanze, so weisen die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen Transkripte der eingeführten Nucleinsäuremoleküle auf. Diese lassen sich z. B. durch Northern-Blot-Analyse oder durch RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) nachweisen. Erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, die ein Antisense- und/oder ein RNAi-Transkript exprimieren, können z.B. mit Hilfe von spezifischen Nucleinsäure-Sonden, die komplementär zur der für das Protein codierenden (natürlich in der Pflanzenzelle vorkommenden) RNA sind, nachgewiesen

werden. Vorzugsweise enthalten die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die

Nucleinsäuremolekül codiert wird. Dies kann z. B. durch immunologische Methoden,

Protein.

das

durch

ein

eingeführtes

ein

insbesondere durch eine Western-Blot-Analyse nachgewiesen werden. ..............

Pflanzen

Ist das eingeführte fremde Nucleinsäuremolekül homolog in Bezug auf die Pflanzenzelle oder Pflanze, können die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen beispielsweise aufgrund der zusätzlichen Expression der eingeführten fremden Nucleinsäuremoleküle unterschieden werden. Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen enthalten vorzugsweise (sense und/oder antisense) Transkripte der fremden Nucleinsäuremoleküle. Dies kann z. B. durch Northern Blot Analyse oder mit Hilfe der sogenannten quantitativen PCR nachgewiesen werden.

10

30

In einer speziellen Ausführungsform handelt es sich bei den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und bei den erfindungsgemäßen Pflanzen um transgene Pflanzenzellen bzw. transgene Pflanzen.

- In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
  - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- 20 b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
  - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
  - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;

- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

5

25

30

Die in SEQ ID NO 4 angegebene Aminosäuresequenz codiert ein Protein mit der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum*.

Ein Plasmid wurde nach dem Budapester Vertrag hinterlegt am 15. September 2003 10 unter der Nummer DSM 15926 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland. Die in SEQ ID NO4 dargestellte Aminosäuresequenz kann von der codierenden Region der in Plasmid DSM 15926 integrierten cDNA Sequenz abgeleitet werden und codiert für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Solanum tuberosum. Die vorliegende Erfindung 15 betrifft Nucleinsäuremoleküle, die ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codieren, das die Aminosäuresequenz umfasst, die von der Insertion in Plasmid DSM 15926 codiert wird, wobei das codierte Protein eine Identität von mindestens 70% bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und inbesondere bevorzugt von 95% zu der Aminosäuresequenz, 20 die von der ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Insertion in DSM 15926 abgeleitet werden kann, aufweist.

Die von den verschiedenen Varianten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle codierten Proteine weisen bestimmte gemeinsame Charakteristika auf. Dazu können z.B. biologische Aktivität, Molekulargewicht, immunologische Reaktivität, Konformation, das Vorliegen von strukturellen und/oder funktionellen Domänen etc. gehören, sowie physikalische Eigenschaften wie z.B. das Laufverhalten in Gelelektrophoresen, chromatographisches Verhalten, Sedimentationskoeffizienten, Löslichkeit, spektroskopische Eigenschaften, Stabilität; pH-Optimum, Temperatur-Optimum etc..

Das von der unter SEQ ID NO 4 dargestellten Aminosäuresequenz abgeleitete Molekulargewicht des Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum beträgt ca. 103 kDa. Das abgeleitete Molekulargewicht eines erfindungsgemäßen Proteins liegt daher vorzugsweise im Bereich von 85 kDa bis 120 kDa, bevorzugt im Bereich von 95 kDa bis 110 kDa und besonders bevorzugt bei ca. kDa 100 bis 105 kDa.

Die in SEQ ID No3 dargestellte Nucleinsäuresequenz ist eine cDNA Sequenz, die die codierende Region für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* umfaßt.

10

15

5

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und die codierende Region der unter Seq ID NO 3 dargestellten Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen, Nucleinsäuremoleküle, die die codierende Region der Nucleotidsequenz der im Plasmid DSM 15926 enthaltenen Insertion umfassen und Nucleinsäuremoleküle, die zu den genannten Nucleinsäuremolekülen eine Identität von mindestens 70%, bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und insbesondere bevorzugt von mindestens 95% aufweisen.

Mit Hilfe der Sequenzinformation des erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls bzw. mit Hilfe des erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls ist es dem Fachmann nun möglich, homologe Sequenzen aus anderen Pflanzenspezies, vorzugsweise aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders bevorzugt aus Solanum tuberosum zu isolieren. Dies kann beispielsweise mit Hilfe konventioneller Methoden, wie dem Durchmustern von cDNA oder genomischen Banken mit geeigneten Hybridisierungsproben erfolgen. Dem Fachmann ist bekannt, dass die Isolierung homologer Sequenzen auch mit Hilfe von (degenerierten) Oligonukleotiden und der Verwendung von PCR basierten Methoden erflogen kann.

30

Auch die Durchmusterung von Datenbanken wie sie z.B. von EMBL (http://www.ebi.ac.uk/Tools/index.htm) oder NCBI (National Center for Biotechnology

Information, <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a>) zur Verfügung gestellt werden, kann zur Identifizierung von homologen Sequenzen, die für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, dienen. Hierbei wird eine oder werden mehrere Sequenzen als sogenannte Abfrage (= query) vorgegeben. Diese Abfragesequenz wird dann mittels statistischen Computerprogrammen mit Sequenzen, die in den ausgewählten Datenbanken enthalten sind, verglichen. Solche Datenbankabfragen (z.B. blast oder fasta searches) sind dem Fachmann bekannt und können bei verschiedenen Anbietern durchgeführt werden.

Wird eine solche Datenbankabfrage z.B. beim NCBI (National Center for Biotechnology Information, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) durchgeführt, so sollen die Standardeinstellungen, die für die jeweilige Vergleichsanfrage vorgegeben sind, benutzt werden. Für Proteinsequenzvergleiche (blastp) sind dieses folgende Einstellungen: Limit entrez = nicht aktiviert; Filter = low compexity aktiviert; Expect value = 10; word size = 3; Matrix = BLOSUM62; Gap costs: Existence = 11, Extension = 1.

Für Nucleinsäuresequenzvergleich (blastn) sind folgende Parameter einzustellen: Limit entrez = nicht aktiviert; Filter = low compexity aktiviert; Expect value = 10; word size = 11.

Bei einer solchen Datenbankrecherche können z.B. die in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Sequenzen als Abfragesequenz (query) verwendet werden, um weitere Nucleinsäuremoleküle und/oder Proteine zu identifizieren, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren.

Mit Hilfe der beschriebenen Methoden ist es auch möglich, erfindungsgemäße Nucleinsäuremoleküle zu identifizieren und/oder zu isolieren, die mit der unter SEQ ID

NO: 3 angegebenen Sequenz hybridisieren und die ein Verzweigungsenzym Klasse 3

codieren.

5

10

15

20

25

30

Der Begriff "Hybridisierung" bedeutet im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Hybridisierung unter konventionellen Hybridisierungsbedingungen, vorzugsweise unter stringenten Bedingungen, wie sie beispielsweise in Sambrock et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) beschrieben sind. Besonders bevorzugt bedeutet "Hybridisierung" eine Hybridisierung unter den folgenden Bedingungen:

Hybridisierungspuffer: 2xSSC; 10xDenhardt-Lösung (Fikoll 400+PEG+BSA; Verhältnis 1:1:1); 0,1% SDS; 5 mM EDTA; 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 250 μg/ml Heringssperma DNA; 50 μg/ml tRNA; oder

25 M Natriumphoshphatpuffer pH 7,2; 1 mM EDTA; 7% SDS

5 Hybridisierungstemperatur:

**10** ·

15

20

25

30

T=65 bis 68°C

Waschpuffer:0,2xSSC; 0,1% SDS

Waschtemperatur: T=65 bis 68°C.

Nucleinsäuremoleküle, die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, können prinzipiell aus jeder beliebigen Pflanzenspezies stammen, die ein entsprechendes Protein exprimiert, vorzugsweise stammen sie aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Spezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum. Nucleinsäuremoleküle, die mit den erfindungsgemäßen Molekülen hybridisieren, können z.B. aus genomischen oder aus cDNA-Bibliotheken isoliert werden. Die Identifizierung und Isolierung derartiger Nucleinsäuremoleküle kann dabei unter Verwendung der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle oder Teile dieser Moleküle bzw. der reversen Komplemente dieser Moleküle erfolgen, z.B. mittels Hybridisierung nach Standardverfahren (siehe z.B. Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) oder durch Amplifikation mittels PCR.

Als Hybridisierungsprobe können z.B. Nucleinsäuremoleküle verwendet werden, die exakt die oder im wesentlichen die unter SEQ ID NO: 3 angegebene Nucleotidsequenz oder Teile dieser Sequenz aufweisen. Bei den als Hybridisierungsprobe verwendeten Fragmenten kann es sich auch um synthetische Fragmente oder Oligonukleotide handeln, die mit Hilfe der gängigen Synthesetechniken hergestellt wurden und deren Sequenz im wesentlichen mit der eines erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls übereinstimmt. Hat man Gene identifiziert und isoliert, die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuresequenzen hybridisieren, sollte eine Bestimmung der Sequenz und eine Analyse der Eigenschaften der von dieser Sequenz codierten Proteine erfolgen, um festzustellen, ob es sich um ein Verzweigungsenzym Klasse 3 handelt. Hierzu eignen sich insbesondere Homologievergleiche auf der Ebene der Nucleinsäure- oder Aminosäuresequenz sowie die Bestimmung der enzymatischen Aktivität. Die Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 kann z.B. wie oben beschrieben durch Expression

in E. coli Stammen, die selbst kein aktives Verzweigungsenzym exprimieren, erfolgen (Kiel et al., 1987 Mol. Gen. Genet 207: 294-301); Guan et al., 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. 92, 964-967).

Die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisierenden Moleküle umfassen insbesondere Fragmente, Derivate und allelische Varianten der oben beschriebenen Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Pflanzen, vorzugsweise aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum codieren. Der Begriff "Derivat" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Sequenzen dieser Moleküle sich von den Sequenzen der oben beschriebenen Nucleinsäuremoleküle an einer oder mehreren Positionen unterscheiden und einen hohen Grad an Identiät zu diesen Sequenzen aufweisen.

Die Abweichungen zu den oben beschriebenen Nucleinsäuremolekülen können dabei z.B. durch Deletion, Addition, Substitution, Insertion oder Rekombination entstanden sein.

Die von den verschiedenen Derivaten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle codierten Proteine weisen bestimmte gemeinsame Charakteristika auf. Dazu können z.B. biologische Aktivität, Substratspezifität, Molekulargewicht, immunologische Reaktivität, Konformation, das Vorliegen von strukturellen und/oder funktionellen Domänen etc. gehören, sowie physikalische Eigenschaften wie z.B. das Laufverhalten in Gelelektrophoresen, chromatographisches Verhalten, Sedimentationskoeffizienten, Löslichkeit, spektroskopische Eigenschaften, Stabilität; pH-Optimum, Temperatur-Optimum etc..

25

30

5

10

15

20

Der Begriff "Identität" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Sequenzidentität über die gesamte Länge der codierenden Region von mindestens 60%, insbesondere eine Identität von mindestens 70%, vorzugsweise über 80%, besonders bevorzugt über 90% und insbesondere von mindestens 95%. Unter dem Begriff "Identität" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung die Anzahl der übereinstimmenden Aminosäuren/Nucleotide (Identität) mit anderen Proteinen/Nucleinsäuren, ausgedrückt in Prozent verstanden werden. Bevorzugt wird

.5

15

20

25

30

die Identität durch Vergleiche der Seq. ID NO 4, oder SEQ ID NO 3 zu anderen Proteinen/Nucleinsäuren mit Hilfe von Computerprogrammen ermittelt. Weisen Sequenzen, die miteinander verglichen werden, unterschiedliche Längen auf, ist die Identität so zu ermitteln, dass die Anzahl an Aminosäuren, welche die kürzere Seguenz mit der längeren Sequenz gemeinsam hat, den prozentualen Anteil der Identität bestimmt. Vorzugsweise wird die Identität mittels der bekannten und der Öffentlichkeit zur Verfügung stehenden Computerprogramms ClustalW (Thompson et al., Nucleic Acids Research 22 (1994), 4673-4680) ermittelt. ClustalW wird öffentich zur Verfügung gestellt von Julie Thompson (Thompson@EMBL-Heidelberg.DE) und Toby Gibson (Gibson@EMBL-Heidelberg.DE), European Molecular Biology Laboratory. Meyerhofstrasse 1, D 69117 Heidelberg, Germany, ClustalW kann ebenfalls von verschiedenen Internetseiten, u.a. beim IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, B.P.163, 67404 Illkirch Cedex, France; ftp://ftp-igbmc.ustrasbg.fr/pub/) und beim EBI (ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/software/) sowie bei allen gespiegelten Internetseiten des EBI (European Bioinformatics Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK), heruntergeladen werden. Vorzugsweise wird das ClustalW Computerprogramm der Version 1.8 benutzt, um die Identität zwischen erfindungsgemäßen Proteinen und anderen Proteinen zu bestimmen. Dabei sind folgende Parameter einzustellen: KTUPLE=1, TOPDIAG=5, WINDOW=5, GAPOPEN=10, PAIRGAP=3, GAPEXTEND=0.05, GAPDIST=8. MAXDIV=40. MATRIX=GONNET, ENDGAPS(OFF), NOPGAP, NOHGAP. Vorzugsweise wird das ClustalW Computerprogramm der Version 1.8 benutzt, um die **Identität** zwischen z.B. Nucleotidsequenz der der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle und der Nucleotidsequenz von anderen Nucleinsäuremolekülen zu bestimmen. Dabei sind folgende Parameter einzustellen: TOPDIAGS=4. KTUPLE=2, PAIRGAP=5, DNAMATRIX: IUB, GAPOPEN=10,

Identität bedeutet ferner, dass funktionelle und/oder strukturelle Äquivalenz zwischen den betreffenden Nucleinsäuremolekülen oder den durch sie codierten Proteinen, besteht. Bei den Nucleinsäuremolekülen, die homolog zu den oben beschriebenen Molekülen sind und Derivate dieser Moleküle darstellen, handelt es sich in der Regel

GAPEXT=5, MAXDIV=40, TRANSITIONS: unweighted.

um Variationen dieser Moleküle, die Modifikationen darstellen, die dieselbe biologische Funktion ausüben. Es kann sich dabei sowohl um natürlicherweise auftretende Variationen handeln, beispielsweise um Sequenzen aus anderen Pflanzenspezies oder um Mutationen, wobei diese Mutationen auf natürliche Weise aufgetreten sein können oder durch gezielte Mutagenese eingeführt wurden. Ferner kann es sich bei den Variationen um synthetisch hergestellte Sequenzen handeln. Bei den allelischen Varianten kann es sich sowohl um natürlich auftretende Varianten handeln, als auch um synthetisch hergestellte oder durch rekombinante DNA-Techniken erzeugte Varianten. Eine spezielle Form von Derivaten stellen z.B. Nucleinsäuremoleküle dar, die auf Grund erfindungsgemäßen Degeneration des genetischen Codes von der Nucleinsäuremolekülen abweichen.

5

10

15

30

Die erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle können beliebige Nucleinsäuremoleküle sein, insbesondere DNA- oder RNA-Moleküle, beispielsweise cDNA, genomische DNA, mRNA etc. Sie können natürlich vorkommende Moleküle sein, oder durch gentechnische oder chemische Syntheseverfahren hergestellte Moleküle. Sie können einzelsträngige Moleküle sein, die entweder den codierenden oder den nicht codierenden Strang enthalten, oder doppelsträngige Moleküle.

Perner betrifft die vorliegende Erfindung Nucleinsäuremoleküle von mindestens 21, vorzugsweise mehr als 50 und besonders bevorzugt mehr als 200 Nucleotiden Länge, die spezifisch mit mindestens einem erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekül hybridisieren. Spezifisch hybridisieren bedeutet hierbei, dass diese Moleküle mit Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, die ein erfindungsgemäßes Protein codieren, jedoch nicht mit Nucleinsäuremolekülen, die andere Proteine codieren.

Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus

 a) T-DNA Molekülen, die durch Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);

- -b)—DNA-Molekülen, die Transposons enthalten, die durch-Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
- c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym 3 Aktivität in der Zelle führen.

5

10

15

20

25

30

d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung können erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen auch durch die Verwendung der sogenannten Insertionsmutagenese (Übersichtsartikel: Thorneycroft et al., 2001, Journal of experimental Botany 52 (361), 1593-1601) hergestellt werden. Unter Insertionsmutagenese ist im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung insbesondere das Inserieren von Transposons oder sogenannter Transfer DNA (T-DNA) in ein Gen oder in die Nähe eines Gens, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3 zu verstehen, wobei dadurch die Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in der betreffenden Zelle erhöht wird.

Bei den Transposons kann es sich dabei sowohl um solche handeln, die in der Zelle natürlicherweise vorkommen (endogene Transposons), als auch um solche, die natürlicherweise nicht in besagter Zelle vorkommen, sondern mittels gentechnischer Methoden, wie z.B. Transformation der Zelle, in die Zelle eingeführt wurden (heterologe Transposons). Die Veränderung der Expression von Genen mittels Transposons ist dem Fachmann bekannt. Eine Übersicht über die Nutzung von endogenen und heterologen Transposons als Werkzeuge in der Pflanzenbiotechnologoie ist in Ramachandran und Sundaresan (2001, Plant Physiology and Biochemistry 39, 234-252) dargestellt.

Die T-DNA Insertionsmutagenese beruht darauf, dass bestimmte Abschnitte (T-DNA) von Ti-Plasmiden aus Agrobacterium-in-das Genom von pflanzlichen Zellen integrieren-können. Der Ort der Integration in das pflanzliche Chromosom ist dabei nicht festgelegt, sondern kann an jeder beliebigen Stelle erfolgen. Integriert die T-DNA in einen Abschnitt oder in die Nähe eines Abschnittes des Chromosoms, der eine Genfuktion darstellt, so kann dieses zur Erhöhung der Genexpression und damit auch zur Änderung der Aktivität eines durch das betreffende Gen codierten Proteins führen.

Die in das Genom inserierten Sequenzen (insbesondere Transposons oder T-DNA) zeichnen sich dabei dadurch aus, dass sie Sequenzen enthalten, die zu einer Aktivierung von regulatorischen Sequenzen eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 Gens führen ("activation tagging").

5

10

15

Erfindungsgemäße Pflanzenzellen und Pflanzen können mit Hilfe der Methode des sogenannten "activation taggings" (siehe z. B. Walden et al., Plant J. (1991), 281-288; Walden et al., Plant Mol. Biol. 26 (1994), 1521-1528) erzeugt werden. Diese Methode beruht auf der Aktivierung endogener Promotoren durch "enhancer"-Sequenzen, wie z.B. dem Enhancer des 35S RNA-Promoters des Blumenkohlmosaikvirus oder dem Octopinsynthase-Enhancers.

- 20 Unter dem Begriff "T-DNA activation tagging" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein T-DNA Fragment verstanden werden, das "enhancer"-Sequenzen enthält und durch Integration in das Genom einer Planzenzelle zu der Erhöhung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.
- 25 Unter dem Begriff "Transposon activation tagging" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Transposon verstanden werden, das "enhancer"-Sequenzen enthält und durch Integration in das Genom einer Planzenzelle zu der Erhöhung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.
- In einer bevorzugten Ausführungsform sind die erfindungsgemäßen DNA Moleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, mit regulatorischen Sequenzen verknüpft, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer

Verzweigungsenzym Klasse-3-Aktivität-in-der-Zelle führen. Die erfindungsgemäßen-Nucleinsäuremoleküle liegen dabei zu den regulatorischen Sequenzen in "sense"-Orientierung vor.

- Zur Expression erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen, die von 5 Klasse 3 codieren, werden diese vorzugsweise mit Verzweigungsenzyme regulatorischen DNA-Sequenzen verknüpft, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten. Hierzu zählen insbesondere Promotoren. Generell kommt für die Expression jeder in pflanzlichen Zellen aktive Promotor in Frage.
- Der Promotor kann dabei so gewählt sein, dass die Expression konstitutiv erfolgt oder nur in einem bestimmten Gewebe, zu einem bestimmten Zeitpunkt der Pflanzenentwicklung oder zu einem durch äußere Einflüsse determinierten Zeitpunkt.

  Sowohl in Bezug auf die Pflanze als auch in Bezug auf das Nucleinsäuremolekül kann der Promotor homolog oder heterolog sein.
  - Geeignete Promotoren sind z.B. der Promotor der 35S RNA des Cauliflower Mosaic 15 Virus und der Ubiquitin-Promotor aus Mais für eine konstitutive Expression, der Patatingen-Promotor B33 (Rocha-Sosa et al., EMBO J. 8 (1989), 23-29) für eine knollenspezifische Expression in Kartoffeln oder ein Promotor, der eine Expression lediglich in photosynthetisch aktiven Geweben sicherstellt, z.B. der ST-LS1-Promotor (Stockhaus et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 (1987), 7943-7947; Stockhaus et al., 20 EMBO J. 8 (1989), 2445-2451) oder für eine endosperm-spezifische Expression der HMG-Promotor aus Weizen, der USP-Promotor, der Phaseolinpromotor, Promotoren von Zein-Genen aus Mais (Pedersen et al., Cell 29 (1982), 1015-1026; Quatroccio et al., Plant Mol. Biol. 15 (1990), 81-93), Glutelin-Promotor (Leisy et al., Plant Mol. Biol. 14 (1990), 41-50; Zheng et al., Plant J. 4 (1993), 357-366; Yoshihara et al., FEBS Lett. 383 25 (1996), 213-218) oder Shrunken-1 Promotor (Werr et al., EMBO J. 4 (1985), 1373-1380). Es können jedoch auch Promotoren verwendet werden, die nur zu einem durch äußere Einflüsse determinierten Zeitpunkt aktiviert werden (siehe beispielsweise WO 9307279). Von besonderem Interesse können hierbei Promotoren von heat-shock 30 Proteinen sein, die eine einfache Induktion erlauben. Ferner können samenspezifische Promotoren verwendet werden, wie z.B. der USP-Promoter aus Vicia faba, der eine

samenspezifische Expression in Vicia faba und anderen Pflanzen gewährleistet (Fiedler

-et-al., Plant Mol. Biol. 22 (1993), 669-679; Bäumlein et al., Mol. Gen. Genet. 225 (1991), 459-467).

Ferner kann eine Terminationssequenz (Polyandenylierungssignal) vorhanden sein, die der Addition eines Poly-A-Schwanzes an das Transkript dient. Dem Poly-A-Schwanz wird eine Funktion bei der Stabilisierung der Transkripte beigemessen. Derartige Elemente sind in der Literatur beschrieben (vgl. Gielen et al., EMBO J. 8 (1989), 23-29) und sind beliebig austauschbar.

5

30

Weiterhin können erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen 10 sogenannten "in situ-Aktivierung", hergestellt werden. Die eingeführte mittels der Modifikation bewirkt dabei eine Veränderung der regulatorischen genetische Sequenzen endogener Verzweigungsenzyme Klasse 3 Gene, was zu einer verstärkten Expression von Verzweigungsenzym Klasse 3 Genen führt. Bevorzugt geschieht die Aktivierung eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens durch "in vivo" Mutagenese eines 15 Promotors oder von "enhancer"-Sequenzen eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens. Dabei kann z.B. ein Promotor oder eine "enhancer"-Sequenz durch derart verändert werden. dass die erzeugte Mutation in Mutagenese erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen zu einer erhöhten Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führt im Vergleich zur 20 Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens in Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen. Die Mutation in einem Promotor oder einer "enhancer"-Sequenz kann auch dazu führen, dass Verzweigungsenzym Klasse 3 Gene in erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen zu einem Zeitpunkt exprimiert werden, zu welchem sie in Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht 25 exprimiert werden.

Bei der sogenannten "in vivo-Mutagenese" wird durch Transformation von Pflanzenzellen ein hybrides RNA-DNA-Oligonucleotid ("Chimeroplast") in Pflanzenzellen eingeführt (Kipp, P.B. et al., Poster Session beim " 5<sup>th</sup> International Congress of Plant Molecular Biology, 21.-27. September 1997, Singapore; R. A. Dixon und C.J. Arntzen, Meeting report zu "Metabolic Engineering in Transgenic Plants", Keystone Symposia, Copper Mountain, CO, USA, TIBTECH 15, (1997), 441-447;

internationale Patentanmeldung WO 9515972; Kren et al., Hepatology 25, (1997), 1462-1468; Cole-Strauss et al., Science 273, (1996), 1386-1389; Beetham et al., 1999, PNAS 96, 8774-8778).

Ein Teil der DNA-Komponente des RNA-DNA-Oligonucleotids ist homolog zu einer Nukleinsäuresequenz eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens, weist jedoch im Vergleich zur Nukleinsäuresequenz eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens eine Mutation auf oder enthält eine heterologe Region, die von den homologen Regionen umschlossen ist.

5

Durch Basenpaarung der homologen Regionen des RNA-DNA-Oligonucleotids und des endogenen Nukleinsäuremoleküls, gefolgt von homologer Rekombination, kann die in der DNA-Komponente des RNA-DNA-Oligonucleotids enthaltene Mutation oder heterologe Region in das Genom einer Pflanzenzelle übertragen werden. Dies führt zu einer Erhöhung der Aktivität eines oder mehrerer Verzweigungsenzyme Klasse 3.

- Alle diese Methoden beruhen auf der Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom einer Pflanzenzelle oder Pflanze und sind daher grundsätzlich zu Herstellung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen und erfindungsgemäßer Pflanzengeeignet.
- Es wurde überraschenderweise gefunden, dass erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen eine modifizierte Stärke synthetisieren im Vergleich zu Stärke von entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen.
- Pflanzenzellen erfindungsgemäßen Pflanzen 25 Die erfindungsgemäßen und synthetisieren eine modifizierte Stärke, die in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften, insbesondere dem Amylosegehalt bzw. dem Amylose/Amylopektin-Verhältnis, dem Verzweigungsgrad, der durchschnittlichen Kettenlänge, der Viskositätsverhalten. der Gelfestigkeit. der Seitenkettenverteilung, dem Stärkekorngröße und/oder der Stärkekornmorphologie im Vergleich zu in Wildtyp-30 Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen synthetisierter Stärke verändert ist, so dass diese für spezielle Verwendungszwecke besser geeignet ist.

Daher umfasst die vorliegende Erfindung auch erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, die eine modifizierte Stärke synthetisieren.

- Der Begriff "modifizierte Stärke" bedeutet in Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Stärke veränderte physico-chemische Eigenschaften gegenüber nicht modifizierter Stärke, erhältlich aus entsprechenden Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen aufweist.
- 10 In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung handelt es sich bei der modifizierten Stärke um native Stärke.

Der Begriff "native Stärke" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Stärke nach dem Fachmann bekannten Methoden aus erfindungsgemäßen Pflanzen, erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen oder erfindungsgemäßem

15 Vermehrungsmaterial von Pflanzen isoliert wird.

Ferner sind Gegenstand der Erfindung genetisch modifizierte Pflanzen, die erfindungsgemäße Pflanzenzellen enthalten. Derartige Pflanzen können durch Regeneration aus erfindungsgemäßen Pflanzenzellen erzeugt werden.

20

25

Bei den erfindungsgemäßen Pflanzen kann es sich prinzipiell um Pflanzen jeder beliebigen Pflanzenspezies handeln, d.h. sowohl um monokotyle als auch dikotyle Pflanzen. Bevorzugt handelt es sich um Nutzpflanzen, d.h. Pflanzen, die vom Menschen kultiviert werden für Zwecke der Ernährung oder für technische, insbesondere industrielle Zwecke.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die erfindungsgemäße Pflanze, ie eine stärkespeichernde Pflanzen.

In einer weitern bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erfindungsgemäße stärkespeichernde Pflanzen der Gattung Solanum, insbesondere Solanum tuberosum.

Der Begriff "stärkespeichernde Pflanzen" umfasst alle Pflanzen mit stärkespeichernden Pflanzenteilen, wie z.B. Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste, Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse, oder Sorghum. Bevorzugte stärkespeichernde Pflanzenteile sind z.B. Knollen, Speicherwurzeln und Körner enthaltend ein Endosperm, besonders bevorzugt sind Knollen, inbesondere bevorzugt sind Knollen von Kartoffelpflanzen.

10

20 -

Der Begriff "Kartoffelpflanze" oder "Kartoffel" meint im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders Knollen produzierende Spezies der Gattung Solanum und insbesondere Solanum tuberosum.

15 Die vorliegende Erfindung betrifft auch Vermehrungsmaterial erfindungsgemäßer Pflanzen, enthaltend eine erfindungsgemäße Pflanzenzelle.

Der Begriff "Vermehrungsmaterial" umfasst dabei jene Bestandteile der Pflanze, die geeignet sind zur Erzeugung von Nachkommen auf vegetativem oder sexuellem Weg. Für die vegetative Vermehrung eignen sich beispielsweise Stecklinge, Calluskulturen, Rhizome oder Knollen. Anderes Vermehrungsmaterial umfasst beispielsweise Früchte, Samen, Sämlinge, Protoplasten, Zellkulturen, etc. Vorzugsweise handelt es sich bei dem Vermehrungsmaterial um Samen und besonders bevorzugt um Knollen.

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erntebare Pflanzenteile erfindungsgemäßer Pflanzen, wie Früchte, Speicherwurzeln, Wurzeln, Blüten, Knospen, Sprosse oder Stämme, vorzugsweise Samen oder Knollen, wobei diese erntebaren Teile erfindungsgemäße Pflanzenzellen enthalten.

Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung\_auch ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen genetisch modifizierten Pflanze, worin

- a) eine Pflanzenzelle genetisch modifiziert wird, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen führt;
- b) aus Pflanzenzellen von Schritt a) eine Pflanze regeneriert wird; und

5

20

25

- c) gegebenenfalls weitere Pflanzen mit Hilfe der Pflanzen nach Schritt b) erzeugt werden.
- Für die laut Schritt a) in die Pflanzenzelle eingeführte genetische Modifikation gilt, dass es sich grundsätzlich um jede Art von Modifikation handeln kann, die zur Verringerung der Aktivität eines Verzweigunsenzyms Klasse 3 führt Die Regeneration der Pflanzen gemäß Schritt (b) kann nach dem Fachmann bekannten Methoden erfolgen (z.B. beschrieben in "Plant Cell Culture Protocols", 1999, edt. by R.D. Hall, Humana Press, ISBN 0-89603-549-2).
  - Die Erzeugung weiterer Pflanzen gemäß Schritt (c) des erfindungsgemäßen Verfahrens kann z.B. erfolgen durch vegetative Vermehrung (beispielsweise über Stecklinge, Knollen oder über Calluskultur und Regeneration ganzer Pflanzen) oder durch sexuelle Vermehrung. Die sexuelle Vermehrung findet dabei vorzugsweise kontrolliert statt, d.h. es werden ausgewählte Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften miteinander gekreuzt und vermehrt.
  - In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht die genetische Modifikation in der Einführung eines erfindungsgemäßen fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanzenzelle, wobei das Vorhandensein oder die Expression besagten fremden Nucleinsäuremoleküls zu einer erhöhten Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in der Zelle führt.
- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren zur Erzeugung erfindungsgemäßer Kartoffelpflanzen verwendet.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, ist das fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt, aus der Gruppe bestehend aus

- a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
  - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- 10 d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;

15

- e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate 20 der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt, aus der Gruppe bestehend aus

- a) T-DNA Molekülen, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer
   25 Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);
  - b) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
- 30 c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen

Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym 3 Aktivität in der Zelle führen;

d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.

5

15

25

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die durch das erfindungsgemäße Verfahren 10 erhältlichen Pflanzen.

In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens synthetisieren die erfindungsgemäßen Pflanzen im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzen eine modifizierte Stärke.

Es wurde überraschenderweise gefunden, dass Pflanzenzellen und Pflanzen, die eine erhöhte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, eine modifizierte Stärke synthetisieren.

20 Die vorliegende Erfindung betrifft auch die durch das erfindungsgemäße Verfahren erhältlichen Pflanzen.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch modifizierte Stärken, erhältlich aus erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen, aus erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial oder aus erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung modifizierte Kartoffelstärken.

30 Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke, umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer erfindungsgemäßen Pflanzenzelle oder einer erfindungsgemäßen Pflanze, aus-

erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial einer solchen Pflanze und/oder aus erfindungsgemäßen-erntebaren-Pflanzenteilen-einer-solchen Pflanze, vorzugsweise-aus-erfindungsgemäßen stärkespeichernden Teilen einer Pflanze. Vorzugsweise umfasst ein solches Verfahren auch den Schritt des Erntens der kultivierten Pflanzen bzw. Pflanzenteile und/oder des Vermehrungsmaterials dieser Pflanzen vor der Extraktion der Stärke und besonders bevorzugt ferner den Schritt der Kultivierung erfindungsgemäßer Pflanzen vor dem Ernten.

Verfahren zur Extraktion der Stärke aus Pflanzen oder von stärkespeichernden Teilen von Pflanzen sind dem Fachmann bekannt. Weiterhin sind Verfahren zur Extraktion der Stärke aus verschiedenen stärkespeichernden Pflanzen beschrieben, z. B. in Starch: Chemistry and Technology (Hrsg.: Whistler, BeMiller und Paschall (1994), 2. Ausgabe, Academic Press Inc. London Ltd; ISBN 0-12-746270-8; siehe z. B. Kapitel XII, Seite 412-468; Mais und Sorghum-Stärken: Herstellung; von Watson; Kapitel XIII, Seite 469-479; Tapioca-, Arrowroot- und Sagostärken: Herstellung; von Corbishley und Miller; Kapitel XIV, Seite 479-490: Kartoffelstärke: Herstellung und Verwendungen; von Mitch; Kapitel XV, Seite 491 bis 506: Weizenstärke: Herstellung, Modifizierung und Verwendungen; von Knight und Oson; und Kapitel XVI, Seite 507 bis 528: Reisstärke! Herstellung und Verwendungen; von Rohmer und Klem; Maisstärke: Eckhoff et al., Cereal Chem. 73 (1996), 54-57, die Extraktion von Maisstärke im industriellen Maßstab wird in der Regel durch das sogenannte "wet milling" erreicht.). Vorrichtungen, die für gewöhnlich bei Verfahren zur Extraktion von Stärke von Pflanzenmaterial verwendet sind Separatoren. Dekanter, Hydrocyclone, Sprühtrockner werden, und Wirbelschichttrockner.

25

30

5

10

15

20

Unter dem Begriff "stärkespeichernde Teile" sollen im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung solche Teile eine Pflanze verstanden werden, in welchen Stärke, im Gegensatz zu transitorischer Blattstärke, zur Überdauerung von längeren Zeiträumen als Depot gespeichert wird. Bevorzugte stärkespeichernde Teile sind Knollen, Speicherwurzeln, Samen oder Endosperm, besonders bevorzugt sind Kartoffelknollen oder das Endosperm von Mais-, Weizen- oder Reispflanzen.

Modifizoierte Stärke, erhältlich nach einem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung modifizierter Stärke, ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Weiterhin ist die Verwendung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßer Pflanzen zur Herstellung einer modifizierten Stärke Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

5

10

20

25

Dem Fachmannn ist bekannt, dass die Eigenschaften von Stärke durch z.B. thermische, chemische, enzymatische oder mechanische Derivatisierung verändert werden können. Derivatisierte Stärken sind für verschiedene Anwendungen im Nahrungsmittel- und/oder Nicht-Nahrungsmittelbereich besonders geeignet. Die erfindungsgemäßen Stärken sind als Ausgangssubstanz besser geeignet zur Herstellung von derivatisierten Stärken als herkömmliche Stärken.

15 Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke, worin erfindungsgemäße modifizierte Stärke, nachträglich derivatisiert wird.

Unter dem Begiff "derivatisierte Stärke" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine erfindungsgemäße modifizierte Stärke verstanden werden, deren Eigenschaften nach der Isolierung aus pflanzlichen Zellen mit Hilfe von chemischen, enzymatischen, thermischen oder mechanischen Verfahren verändert wurde.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung handelt es sich bei der erfindungsgemäßen derivatisierten Stärke um Hitze und/oder Säurebehandelte Stärke.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärkeether, insbeondere um Stärke-Alkylether, O-Allylether, Hydroxylalkylether, O-Carboxylmethylether, stickstoffhaltige Stärkeether, phosphathaltige Stärkeether oder schwefelhaltige Stärkeether.

30 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um vernetzte Stärken.

In einer weiteren bevorzugten-Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärke-Pfropf-Polymerisate.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um oxidierte Stärken.

- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärkeester, insbesondere um Stärkeester, die unter Verwendung von organischen Säuren in die Stärke eingefürhrt wurden. Besonders bevorzugt handelt es sich um Phosphat-, Nitrat-, Sulfat-, Xanthat-, Acetat- oder Citratstärken.
- Die erfindungsgemäßen derivatisierten Stärken eignen sich für verschiedene Verwendungen im Nahrungsmittel- und/oder Nicht-Nahrungsmittelbereich. Methoden zur Herstellung von erfindungsgemäßen derivatisierten Stärken sind dem Fachmann bekannt und in der allgemeinen Literatur ausreichend beschrieben. Eine Übersicht zur Herstellung von derivatisierten Stärken findet sich z.B. bei Orthoefer (in Corn, Chemistry and Technology, 1987, eds. Watson und Ramstad, Chapter 16, 479-499).

Derivatisierte Stärke, erhältlich nach dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

20

Ferner ist die Verwendung erfindungsgemäßer modifizierter Stärken zur Herstellung von derivatisierter Stärke Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

## Beschreibung der Sequenzen

SEQ ID NO 1: Nucleinsäuresequenz enthaltend die codierende Region des 3'-Bereichs eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 46-196 inseriert.

SEQ ID NO 2: Nucleinsäuresequenz enthaltend die codierende Region des 5'-Bereichs eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 47-196 inseriert.

10

15

20

25

5

SEQ ID NO 3: Nucleinsäuresequenz enthaltend die vollständige codierende Region eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 49 inseriert und wurde nach dem Budapester Vertrag hinterlegt am 15. September 2003 unter der Nummer DSM 15926 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland.

SEQ ID NO 4: Aminosäuresequenz codierend eine Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist von der in Plasmid AN 49 inserierten Nucleinsäuresequenz bzw. von der unter SEQ ID NO 3 beschriebenen Nucleinsäuresequenz ableitbar.

SEQ ID NO 5: Nucleinsäuresequenz enthaltend die vollständige codierende Region eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz wurde erhalten durch Zusammenfügen der unter SEQ ID NO 1 und SEQ ID NO 2 beschriebenen Nucleinsäuresequenzen. Diese Nucleinsäuresequenz stellt eine allelische Variante der unter SEQ ID NO 3 beschriebenen Nucleinsäuresequenz, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3, dar.

30 SEQ ID NO 6: Aminosäuresequenz codierend eine Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum (cv Désirée). Diese Sequenz ist. von der unter SEQ ID NO 5 beschriebenen Nucleinsäuresequenz ableitbar und stellt die Aminosäuresequenz einer

allelischen Variante zu der unter SEQ ID NO 4 beschriebenen Aminosäuresequenz, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3-dar.

### Allgemeine Methoden--

10

15

20

25

In den Beispielen wurden die folgenden Methoden verwendet:

## 5 Nachweis der Aktivität eines Verzweigunsenzyms Klasse 3

Der Nachweis der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 mit Hilfe der nicht denaturierenden Gelelektrophorese wurde wie folgt durchgeführt :

Zur Isolierung von Proteinen aus Pflanzen wurde das Probenmaterial in flüssigem Stickstoff gemörsert, in Extraktionspuffer (50 mM Na-Citrat, pH 6.5; 1 mM EDTA, 4 mM DTT) aufgenommen und nach Zentrifugation (10 min, 14.000 g, 4 °C) direkt zur Messung der Proteinkonzentration nach Bradford eingesetzt. Anschließend wurde je nach Bedarf 5µg bis 20 µg Gesamt-Proteinextrakt mit 4-fach Loading-Buffer (20% Glycerin, 125 mM Tris HCl, pH 6,8) versetzt und auf ein BE-Aktivitätsgel geladen. Das BE-Aktivitätsgel setzt sich wie folgt zusammen: 2,5 ml 30% Acrylamid:0,8% Bisacrylamid, 0,1 ml Laufpuffer, 7,4 ml H<sub>2</sub>O, 10% Ammoniumpersulfat-Lösung und 5 µl N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin (TEMED). Der Laufpuffer (RB) setzte sich wie folgt zusammen: RB = 30,2 g Tris-Base, pH 8.0, 144 g Glycine auf 1 L H<sub>2</sub>O. Nach Beendigung des Gellaufes wurden die Gele in je 25 ml "Phosphorylase – Puffer" (25 ml 1M Na-Citrat pH 7,0, 0,47 g Glucose-1-Phosphat, 12,5 mg AMP, 2,5 mg Phosphorylase a/b aus "rabbit") über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Färbung der Gele wurde mit Lugol'sche Lösung durchgeführt.

#### Transformation von Oryza sativa (cv. M202)

Reispflanzen wurden nach der von Hiei et al. (1994, Plant Journal 6(2), 271-282) beschriebenen Methode transformiert.

#### Beispiel 1

5

20

25

# Klonierung einer Vollängensequenz codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Solanum tuberosum

Die Gensequenz codierend für dieses Verzweigungsenzym Klasse 3 ist in Solanum tuberosum bisher noch nicht beschrieben worden.

Über Sequenzvergleiche mit verschiedenen Verzweigungsenzymen konnte eine Domäne identifiziert werden, mit deren Hilfe EST-Datenbanken durchmustert wurden. Hierbei konnte der EST TC73137 (TIGR Datenbank; http://www.tigr.org/tigr-scripts/tgi/tc\_report.pl?tc=TC73137&species=potato) aus Kartoffel identifiziert werden.

Mit Hilfe der Primer B1\_Asp (GAT GGG TAC CAG CAC TTC TAC TTG GCA GAG G) und B2\_Sal (TCA AGT CGA CCA CAA CCA GTC CAT TTC TGG) konnte eine zu dieser EST-Sequenz korrespondierende Sequenz aus einer knollespezifischen cDNA-Bank von Solanum tuberosum (cv. Désirée) amplifiziert werden. Versuche, blattspezifische, "sink"- oder "source"-Gewebe spezifische cDNA-Banken als Template für die PCR Reaktion zu verwenden, führten zu keinem Amplifikat.

Um die gesamte codierende Sequenz des betreffenden Verzweigungsenzyms, die auch bisher unbekannte Sequenzen umfasst, zu amplifizieren, wurden Primer hergestellt, die zu den Enden der bisher bekannten Sequenz und Vektorsequenzen der betreffenden cDNA Banken komplememtär sind. Bei allen mittels dieses Ansatzes verwendeten Primerkombinationen zur Amplifikation einer vollänge Sequenz eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, konnte kein weiterer Bereich amplifiziert werden. Daraufhin wurden EST-Datenbanken von Tomate erneut durchmustert.

Hierbei konnten zwei ESTs aus Tomate identifiziert werden (TIGR Datenbank; BG127920 und TC130382), die entweder eine hohe Homologie zu dem oben beschriebenen Amplifikat des Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Kartoffel (TC130382) bzw. (BG127920). oder zu dem putativen Verzweigungsenzym Gen aus Arabidopsis (Genbank: GPI9294564IdbilBAB02827.1) aufweisen.

Es wurden nun erneut Primer hergestellt, um auch bisher unbekannte Sequenzen des Verzweigungsenzyms Klasse 3 zu amplifizieren. Mittels PCR wurde aus einer cDNA Bank, hergestellt aus Knollen von Solanum tuberosum (cv. Désirée), mit den Primern

KM2\_Spe (5'-TCAAACTAGTCACAACCAGTCCATTTCTGG-3') und So\_putE\_(5'-CACTTTAGAAGGTATCAGAGC-3') der 3'-Bereich des Verzweigungsenzyms Klasse 3 amplifiziert. Das erhaltende ca. 1 kb große Fragment wurde ungerichtet in den pCR4-TOPO Vektor von Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das entstandene Plasmid wurde als AN 46-196 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 46-196 ist unter SEQ ID No 1 dargestellt.

Der 5'-Bereich wurde ebenfalls mittels PCR-Technik und unter Verwendung der Primer So\_put5' (5'-GTATTTCTGCGAAGGAACGACC-3') und So\_putA (5'-AACAATGCTCTCTGTCGG-3') aus der selben cDNA-Bank amplifiziert. Das erhaltende ca. 2 kb große Fragment wurde ungerichtet in den pCR4-TOPO Vektor von Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das entstandene Plasmid wurde als AN 47-196 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 47-196 ist unter SEQ ID No 2 dargestellt.

15

20

<sup>-</sup>25

10

Es wurden nun erneut Primer hergestellt, um eine Vollängensequenz zu amplifizieren. Folgende Primer wurden verwendet: SO\_putA (AACAATGCTCTCTCTGTCGG) und SO\_putE (CACTTTAGAAGGTATCAGAGC). Ein ungefähr 3,2 kb großes PCR-Produkt wurde erhalten und in den pCR2.1-Vektor der Firma Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das erhaltene Plasmid (hinterlegt unter DSM 15926) wurde mit AN 49 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 49 ist unter SEQ ID No 3 dargestellt.

# Beispiel 2

# Angaben zu Vektoren und Plasmiden

# Herstellung des Expressionsvektors ME5/6

pGSV71 ist ein Derivat des Plasmides pGSV7, welches sich vom intermediären Vektor pGSV1 ableitet. pGSV1 stellt ein Derivat von pGSC1700 dar, dessen Konstruktion von Cornelissen und Vanderwiele (Nucleic Acid Research 17, (1989), 19-25) beschrieben

wurde. pGSV1 wurde aus pGSC1700 erhalten, durch Deletion des Carbenicillin Resistenzgen, sowie Deletion der T-DNA-Sequenzen der TL-DNA-Region des Plasmides pTiB6S3.

pGSV7 enthält den Replikationsursprung des Plasmides pBR322 (Bolivar et al., Gene 2, (1977), 95-113) sowie den Replikationsursprung des *Pseudomonas*-Plasmides pVS1 (Itoh et al., Plasmid 11, (1984), 206). pGSV7 enthält außerdem das selektierbare Markergen *aadA*, aus dem Transposon Tn1331 aus *Klebsiella pneumoniae*, welches Resistenz gegenüber den Antibiotika Spectinomycin und Streptomycin verleiht (Tolmasky, Plasmid 24 (3), (1990), 218-226; Tolmasky and Crosa, Plasmid 29(1), (1993), 31-40)

Das Plasmid pGSV71 wurde erhalten durch Klonierung eines chimären *bar*-Gens zwischen die Borderregionen von pGSV7. Das chimäre *bar*-Gen enthält die Promotorsequenz des Blumenkohlmosaikvirus zur Initiation der Transkription (Odell et al., Nature 313, (1985), 180), das *bar*-Gen aus *Streptomyces hygroscopicus* (Thompson et al., Embo J. 6, (1987), 2519-2523) und den 3'-untranslatierten Bereich des Nopalinsynthasegens der T-DNA von pTiT37, zur Termination der Transkription und Polyadenylierung. Das *bar*-Gen vermittelt Toleranz gegenüber dem Herbizid Glufosinat-Ammonium.

Die T-DNA enthält an Position 198-222 die rechte Randsequenz der TL-DNA aus dem Plasmid pTiB6S3 (Gielen et al., EMBO J. 3, (1984), 835-846). Zwischen Nukleotid 223-249 befindet sich eine Polylinker-Sequenz. Die Nukleotide 250-1634 enthalten die P35S3 Promotor-Region des Blumenkohl-Mosaik-Virus (Odell et al., siehe oben). Die codierende Sequenz des Phosphinothricin-Resistenzgen (bar) aus Streptomyces hygroscopicus (Thompson et al. 1987, siehe oben) ist zwischen den Nukleotiden 1635-2186 enthalten. Dabei wurden die zwei endständigen Codons am 5'-Ende des bar-Wildtyp-Gens ersetzt durch die Codons ATG und GAC. Zwischen den Nukleotiden 2187-2205 befindet sich eine Polylinker-Sequenz. Das 260 bp lange Taql-Fragment des nicht-translatierten 3'-Endes des Nopalinsynthase-Gens (3'nos) aus der T-DNA des Plasmides pTiT37 (Depicker et al., J. Mol. Appl. Genet. 1, (1982), 561-573) befindet sich zwischen den Nukleotiden 2206 und 2465. Die Nukleotide 2466-2519 enthalten eine Polylinker-Sequenz. Die linke Randsequenz der TL-DNA aus pTiB6S3 (Gielen et al., EMBO J. 3, (1984), 835-846) befindet sich zwischen den Nukleotiden 2520-2544.

Der Vekter-pGSV71 wurde dann mit dem Enzym *Pst*I aufgeschnitten und geglättet. Aus dem Vekter pB33-Kan wurde der B33 Promotor sowie die *ocs*-Kassette als *Eco*RI-*Hind*III-Fragment ausgeschnitten und geglättet und in den mit *Pst*I aufgeschnittenen und geglätteten Vekter pGSV71 eingefügt. Der erhaltene Vekter diente als Ausgangsvekter zur Konstruktion von ME5/6: In die zwischen B33-Promotor und *ocs*-Element gelegene *Pst*I-Schnittstelle des Vekters ME4/6 wurde ein Oligonukleotid, enthaltend die Schnittstellen *Eco*RI, *Pac*I, *Spe*I, *Srf*I, *Spe*I, *Not*I, *Pac*I und *Eco*RI, unter Verdopplung der *Pst*I-Schnittstelle eingeführt. Der erhaltene Expressionsvekter wurde als ME5/6 bezeichnet.

10

15

20

5

#### Herstellung des Expressionsvektors IL103-123

Im weiteren Verlauf wurde ein BamHI-Fragment von ME5-6 gegen ein um einige Schnittstellen erweitertes aber ansonsten identisches PCR-Produkt ausgetauscht, wodurch das Plasmid UL1-17 entstand. Der in UL1-17 enthaltene B33-Promotor wurde mit den Restriktionsenzymen Hindll und Pstl herausgeschnitten und der Vektor nach ·Glätten der Ende religiert, was den Vektor ML18-56 liefert. Dieser Vektor wurde mit Munl und Pstl geöffnet und eine durch zwei Oligonukleotide synthetisierte MCS mit entsprechenden klebrigen Enden eingefügt. Das so entstandene Plasmid ML72-123 wurde mit den Restriktionsenzymen Hpal und Munl geöffnet und Oligonukleotide für Erkennungssequenzen weiterer Restriktionsenzyme eingeführt (IR96-123). Nachfolgend wurde ein Ecl136II/EcoRV PCR-Produkt für den Globulin-Promotor aus Reis in die EcoRV-Schnittstelle von IR96-123 ligiert, wodurch der Basisvektor für eine endospermspezifsche Expression von Genen verschiedensten Ursprungs erzeugt wurde. Dieser Vektor wird im folgenden als IR103-123 bezeichnet.

25

30

## Herstellung des Plasmides AH33-191

Die Herstellung des Plasmides AH33-191 für eine endosperm-spezifische Expression eines potentiellen Verzweigungsenzymes Klasse 3 aus Kartoffel in Reis erfolgte durch Ligation eines *EcoRV/Sacl-*Fragmentes der entsprechenden cDNA aus dem Plasmid AN49 in die entsprechenden Schnittstellen von IR103-123.

# **Beispiel** 3

# Genetisch modifizierte Pflanzen mit erhöhter Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität

Zur Erzeugung transgener Reispflanzen, die eine erhöhte Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens aufweisen, wurde die T-DNA des Plasmids AH33-191 mit Hilfe von Agrobakterien, wie oben unter allgemeine Metoden beschrieben, in Reispflanzen (M202) transferiert

Die Analyse der erhaltenen transgenen Reispflanzen mit Hilfe der nicht denaturierenden Gelelektrophorese von Protein-Extrakten aus Körneren von Wildtyp-Pflanzenzellen und/oder Protein-Extrakten von genetisch modifizierten Pflanzen, zeigte dass die Körner von genetisch modifizierten Pflanzenzellen eine erhöhte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, im Vergleich zu Protein-Extrakten aus Körnern von Wildtyp-Pflanzenzellen.

Patentansprüche

BCS 03-5005

- —1. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine erhöhte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen aufweist.
- Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 1, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanze besteht.
- Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 2, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert.
  - 4. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 3, wobei besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
    - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
    - Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
    - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
    - d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder
       c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens
       50% aufweist;
    - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder —c) beschriebenen —Nucleinsäuremolekülen unter stringenten-Bedingungen hybridisieren;
    - f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetisches Codes von der Sequenz der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und

20

25

15

5. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 2 bis 4, wobei besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus

10

15

20

- a) T-DNA Molekülen, die durch Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);
- b) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, die durch Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
  - c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität in der Zelle führen.
  - d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.
- 6. Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 1 bis 5, die im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen eine modifizierte Stärke synthetisiert.
  - 7. Pflanze enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
  - 8. Pflanze nach Anspruch 7, die eine stärkespeichernde Pflanze ist.
  - 9. Pflanze nach Anspruch 7, die eine Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste,
    Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse oder Sorghum Pflanze ist.

Pflanze nach Anspruch 9, die eine Kartoffelpflanze ist.

5

- 11. Vermehrungsmaterial von Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10, enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 12. Erntebare Pflanzenteile von Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10, enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 13. Verfahren zur Herstellung einer genetisch modifizierten Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, worin
  - a) eine Pflanzenzelle genetisch modifiziert wird, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen führt;
  - b) aus Pflanzenzellen von Schritt a) eine Pflanze regeneriert wird; und
  - c) gegebenenfalls weitere Pflanzen mit Hilfe der Pflanzen nach Schritt b) erzeugt werden.
- 15 14. Verfahren nach Anspruch 13, worin die genetische Modifikation in der Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanze besteht.
  - 15. Verfahren nach Anspruch 14, worin besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
- a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
  - b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen
    Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ
    ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
- c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;

- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
- e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremolekülen unter stringenten Bedingungen hybridisieren;

5

10

15

20

25

- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetisches Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.
- 16. Verfahren nach Anspruch 14, worin besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
  - a) T-DNA Molekülen, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);
  - b) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
    - c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität in der Zelle führen;
    - d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.

- 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 16, worin die genetisch modifizierte Pflanze im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzen eine modifizierte Stärke synthetisiert.
- 18. Modifizierte Stärke erhältlich aus einer genetisch modifizierten Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, aus Vermehrungsmaterial nach Ansprüch 11, oder aus erntebaren Pflanzenteilen nach Ansprüch 12.
  - Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 10 20. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10.
  - 21. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus erntebaren Pflanzenteilen nach Anspruch 12.
  - 22. Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke, worin modifizierte Stärke nach Anspruch 18 oder erhältlich durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 19, 20 oder 21 derivatisiert wird.
    - 23. Verwendung von genetisch modifizierten Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10 zur Herstellung einer modifizierten Stärke.
  - 24. Modifizierte Stärke erhältlich nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 19, 20 oder 21.
    - 25. Derivatisierte Stärke erhältlich nach einem Verfahren nach Anspruch 22.
    - 26. Verwendung von modifizierter Stärke nach einem der Ansprüche 18 oder 24 zur -- Herstellung-von derivatisierter Stärke.

15

# Zusammnefassung

Die vorliegende Erfindung betrifft-Pflanzenzellen-und-Pflanzen, die-genetischmodifiziert sind, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines
pflanzlichen Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht
genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen führt. Ferner
betrifft die vorliegende Erfindung Mittel und Verfahren zur Herstellung solcher
Pflanzenzellen und Pflanzen. Derartige Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisieren
eine modifizierte Stärke. Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die von den
erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisierte Stärke sowie
Verfahren zur Herstellung dieser Stärke, als auch die Herstellung von
Stärkederivaten dieser modifizierten Stärke.

		30-09-2	
SwissProt Acc No.	Aminosäure Nr.	SwissProt Acc No. oder	Aminosäure Nr.
Entry Name		Entry Name	
APU_THETU	1251-1331	Q9XED2	101-191
GLGB_SYNY3	22-110	Q08131	137-227
P71095	39-130	GLGB_HUMAN	73-168
	181-274	Q9V6K7	52-144
Q9RXB0	301-395	Q22137	53-147
PULA_KLEPN	1143-1238	Q9RM63	· 25-149
P70983	205-298	ISOA_FLASP	36-163
Q41386	202-295	ISOA_PSEAY	30-155
O64454	105-191	P73608	22-122
O69008	104-189	004196	74-177
O34587	231-319	Q9SPT7	8-110
Q9XDB5	223-311	Q41742	114-218
PULA_THEMA	206-300	GLGX_HAEIN	10-101
Q59319	41-123	Q9RNH5	20-117
YIEL_ECOLI	22-100	GLGX_ECOLI	9-104
Q9RX51	24-116	Q9RXP5	13-108
O66936	141-233	GLGX_MYCTU	24-119
Q59832	160-252	Q9X947	18-113
GLGB_STRAU	24-116	P72691	19-120·
GLGB_BUTFI		P95868	17-117
GLGB_AGRTU	130-223	O84046	11-108
Q9RQI5	134-226 122-214	Q9Z8F5	11-108
GLGB_ECOLI	122-214	Q9ZVT2	232-335
GLGB_HAEIN		Q44528	2-83
GLGB_SYNY3	126-217	Q9X2G0	276-357
GLGB_MYCTU	127-223	Q9X2G0	15-98
Q9RTB7	26-115	Q45643	46-114
GLGB_BACSU	23-115	Q9X2G0	126-217
Q59242	23-115	TREZ ARTSQ	5-90
O84874	117-209	TREZ_MYCTU	2-68
O49185	62-153	Q55088	1-79
GLGB_YEAST	59-153	Q53641	1-79
Q9Y8H3	47-147	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	• • •

Tabelle 1 Aminosäuresequenzen, enthalten in dem "seed alignment", das zur Erstellung des HMM für die Pfam Isoamylase Domäne (PF 02922) verwendet wird. Angegeben sind die "accession" Nummer (Acc No) oder der Name (Entry Name), unter welcher/welchem die entsprechenden Aminosäuresequenzen in der SwissProt Datenbank eingetragen sind. Weiterhin sind diejenigen Abschnitte der Aminosäuresequenzen des entsprechenden SwissProt Eintrages angegeben, die Bestandteil des "seed alignments" sind (Aminosäure Nr.).

SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.	SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.
AMYM_BACLI	137-479	CDG1_PAEMA	46=426
MALZ ECOLI	128-522	CDGT_BACOH	44-420
APU THESA	393-821	AMYB_PAEPO	751-1107
APU THEET	390-820	AMYA_ASPOR	34-390
CDAS_THEET	136-494	AMY1_DEBOC	49-405
NEPU_BACST	139-497	AMY1_SACFI	40-396
AMYM BACAD	139-497	AMY1_ECOLI	193-611
AMY2 DICTH	138-470	ISOA_PSEAY	209-652
MALT AEDAE	29-425	AMY_BUTFI	126-520
MAL2_DROME	30-432	AMY_BACSU	41-383
MAL3 DROME	31-428	AMY_THECU	40-392
MAL1_DROME	35-420	AMY_STRHY	37-360
MAXS_YEAST	17-441	AMY_STRGR	35-372
MAYS_YEAST	22-446	AMY_ALTHA	28-373
MA3S_YEAST	21-443	AMYA_AERHY	26-369
TREC_ECOLI	15-414	AMYC_HUMAN	26-413
TREC_BACSU	16 <del>-4</del> 18	AMYA_DROME	29-396
O16G_BACSP	11-420	AMY1_AERHY	22-379
O16G_BACCE	13-419	AMT4_PSESA	38-387
DEXB_STRMU	13-394	AMY2_ECOLI	12-402
AMY_BACME	44-406	AMY_BACLI	34-420
AMY3_DICTH	39-381	AMY_BACAM	34-422
AMY_STRLI	77-520	AMT6_BACS7	40-426
CDGT_KLEPN	47-463	AMY3_WHEAT	26-348
AMYM_BACST	46-430	AM3A_ORYSA	29-367
CDGT_BACST	47-425	AMYA_VIGMU	24-361
AMYR_BAC\$8 ·	46-425	AM2A_ORYSA	23-366

Tabelle 2 Aminosäuresequenzen, enthalten in dem "seed alignment", das zur Erstellung des HMM für die Pfam Alpha-Amylase Domäne (PF 00128) verwendet wird. Angegeben sind die "accession" Nummer (Acc No) oder der Name (Entry Name), unter welcher/welchem die entsprechenden Aminosäuresequenzen in der SwissProt Datenbank eingetragen sind. Weiterhin sind diejenigen Abschnitte der Aminosäuresequenzen des entsprechenden SwissProt Eintrages angegeben, die Bestandteil des "seed alignments" sind (Aminosäure Nr.).

	į	644 • · · ·	, >-	3373 -249	316	-3936 -249	1139 -249	-5877 -249	161 -249
				1852 -294	-2 <del>4.3</del>	4594 -294	3558 -294	166	-294
		-1998 	≥			•	•		•
		384	>	-2330	-1619 -369	400 369	-2514 -369	-369	343 -369
		20	<b>-</b> .	159 117	-593 117	387	-1159 117	4943	-3237
		531	ဟ	-777 359	-924 359	545 359	-1753 359	4652 359	359
		45	œ	-1058 96	-2737 96	105 96	-4376 96	-5049 96	-4397 96
		-313	a	-3877	241 45	-172 45	-4199 45	-3996 45	-4218 45
		-21	Ω.	2303	-680 394	2668 394	4871 394	-5515 394	109 394
		-142	z	4157	-1115 275	-2653 275	4465 275	-3689 275	4485 275
		-1085	Σ	739		-3486 -720	1112	-5732 -720	-2327 -720 1/9
		- 206	٠.	-2763	466	-1032 -466	2525 -466	-6434 466	4593 -29 -2; 210 466 - Tabelle 3, Blatt 1/9
		249	<b>⊼</b> ₽	4218	373 210	1255 210	4575 210	-1174 210	-4593 210 Tabelle
	4	197	- Ž	-2412	-1609 -22 -1609 -23	-1878 -626	-829 -826	. 174 626	-635 -626
	-8455	-1158	Z V	-3427	106 -1378 -2632 106	-1378 -313 106	-1378 -3692 106	-1378 -4321 106	-1378 -3713 106 -1378
	4	453	ر ا ا	-					-701 -1817 399 -701
	-8455	-294	1. 1L	•					-1115 -381 -1115
	-1000	338	<b>w</b> .		89 43 53 4 5				
D.ann ann		85	۵.	m->d -5527 -5203 -		-11899 -2899		-11958 -1172 -233	
AM SEE	4 -1000	_				•	•		
S.ann H 0 1	•	-8455 -1558	6 <u>1</u>	E-2912	-500 -10660 -4276	-200 -10857 -4386	-3101 -3101	-500 -10916 -6327	-3001 -10941 -446 -500 -10941
R2.0 [2.3.1] Isoamylase_N PF02922 Isoamylase N-term 121 Amino no no hmmbuild -F HMM_Is.ann SEED.ann hmmcalibrateseed 0 HMM_Is.ann 65 2.3.2.3	-8455	4 595 -		m-≻m -32 433					-149 -12 -149 -1
2.3.1]	_		9790		ما		. , 🖛		
HMMERR2.0 [2.3.1] NAME isoamylase_N ACC PF02922 DESC isoamylase N-LENG 121 ALPH Amino RF no CS no MAP yes COM hmmbuild -F I-COM hmmcalibrate NSEQ 65 DATE CKSUM 3012 GA 2.32.3	2.1 2.1		-56.839790	•	- 1 1 13	, , , ,	4	,	
HMMERR2.0 NAME Isoart ACC PF02: DESC Isoart LENG 121 ALPH Amin RF no CS no MAP yes COM hmm! NSEQ 65 DATE CKSUM 3012 GA 2.3.2 TC 2.3.2.2	일두	NULT	EVD						

Tabelle 3 Angaben zur Erstellung des HMM für die Pfam Isoamylase Domäne (PF 02922)

_	ω	თ	٠ 5	Ξ	12	13	4	5	16	4	8	<u>6</u>	8	
-3981 -249	2394 -249	380 -249	-15 -249	-3345 -249	-2959 -249	-3831 -249	-1529	-2315 -249	-5237 -249	-2410 -249	-3260	-266 -249	-771 -249	
-4653 -294	1850	4365 -294	-29 <del>4</del>	-4026 -294	-3637 -294	-294 -294	-1876 -294	-2998	-5331	-3046 -294	-3933	-294 -294	-294 -294	-
312 -369	834 -369	-577 -369	-1189 -369	-888 -369	-3067 -369	4063 -369	1517 -369	-289 -369	335 -369	802 -369	2044 -369	-1409 -369	-4098 -369	
1327	.1672 117	-340	-514	-855 117	912	2401	-1503 117	-1284 117	-2415 117	-1440 117	459	470	117	
, 428 359	.1606 .359	144 359	164 359	-2257 359	-621 359	-2580 359	-2162 359	-1224 359	816 359	-1401 359	-2196 359	203 359	81 359	
-67 96	168	-268 96	66 66 66	- 2097 96	-253 96	-2778 96	-2591 96	-1068 96	4699 96	-1233 96	-2044 96	-585 96	434 96	
-102 45	1158 45	1174 45	-1590 45	775	738 45	823 45	-2380 45	683 45	4449 45	-729 45	-1495 45	395 45	186 . 45	
4102 394	•	1346 394	•	230 394	394 394	3560	-3139 394	-2408 394	477 394	1166 394	-3378 394	-1034 394	-360 394	
1206 -		•		448 275	1275	1207	-2663 275	1507	-3556 275	-1122 275	353 275	1770 275	-12 275	
. 169		•			2049	-3642	1929	-1903	-4214 -720	-1944	-2833 -720	-3078	-3565 -720	5/8
4467	•	•	1843 466	-		4468	4 4	-2828 466	-5141 -5141	-2816 -2816	-1513 466	4005	4492	e 3, Blatt 2/9
7 6	210 -159 210	1953	458	467	389	2156	-2718	499	4947	864	1272	808	627 627 210 *	Tabelle
280	526 346 536	3 - 5	-626 -3935	-626	810 810	4550	-626 1265	-626 -2880	-626 -4858	-2783	-3779	4060	* * * * * * * * * * * * * * * * * * *	
3316	. 106 .1378 .3587	1378 276	106 -106 -2048	500 500 500 500 500 500 500 500 500 500	85- 13- 13- 13- 13- 13- 13- 13- 13- 13- 13	106 41 -2276	85 89 89	136 136	25 88 89 89 89 89 89 89 89 89 89 89 89 89	-307 -1158	106 -749 -1948	-24 4 5 24 4 8 3 4 4 4 8	106 -3458 -196 106 -2654	
			399 -3823 1176	399 -4637 836	399 -1364 -553	399 -5168 892	399 -5452 -398	399 -5563 -240	399 4086 3282	399 -2384 -2427	-1304 -89 -89	399 -1909 1492	399 -138 2552 399 399	207
1229	-381 -1115 1372	-381 -1115 -4483											-381 -1115 -381 -381	
													43 -506 -506 -506	
2893	233 1983 5058	233 -2276 1665	233 -2164 616	233 -5043 1826	233 -931 1648	233 -1751 -1367	233 -2404 -3700	233	233 -3483 4788	233 -698 -1292	233 -9845 1692	233 -11137 418	233 -5558 -607 233	-11959
. 4458	-500 -500 -3201	-500 10941	-500 -500 10608 -3873	-500 -500 10244	10201 10201	-500 -9739 -9739	-500 -9232	-500 -8931 -500 -500 -500 -500 -500 -500 -500 -50	-500 -500 -2556	-500 -8903	-500 -8803 -3738	-500 -10095 -3988	-10365 1-10365 1-4476 1-500	-10917
1473	-149 -1-1-1	-149 -335 -1	-149 -365	4. 4. 4.	-149 -1075 -	-149 -511	-149 -305 -305	8 4 6 5	-149 -139	-1391	24. 45. 5. 5.	44.	-149 -904 -149	7
r	_ , , 00		ກ , . ⊂	) , , <del>,</del>	- , , ,	N 1 1 C	·	dr 1 1 4	n			o , , d	5 6	•

2		23	24	52	56	27	88	58	30	3	8	8	<b>8</b>	æ	
512 -249	444 -249	1564 -249	531	265 -249	2570 -249	-5256 -249	4985 -249	700	-5893 -249	-834	-866 -249	-4988 -249	910	-5607 -249	
1631	4694 -294	-3659 -294	4578	-3750	5535 -294	392	-294	-294	-294	4739 -294	125 -29-	-294	-294 -294	-294	
2518 -369	714	-410 -369	3897 -369	2623 -369	-6697 -369	4553 -369	4961 -369	-682 -369	-1832 -369	-788 -369	-1807 -369	3460 -369	-1017 -369	2356	
2145	1578	3321	117	-3396 117	-7486 117	97	-1675 117	1414	4321	1202	-638 117	4511	976 117	-5011	
4006 359	.1028 359	.1974 · . 359	501 359	359	359	2037 359	359	-822 359	178 359	.590 359	470 359	-5634 359	1507 359	-6367 359	
4478 - 96	1656 - 96	.1411 96	2409 96	4568 96	-1618 96	4834 96	-1215 96	-1460 96	4921 96	1235 96	1510 96	-2134 96	962 96	-6803 - 96	
-4301 -45	-2312 45	-4306 -45	-2403 45	-4386 45	-6639 45	4560	-3175 45	261 45	-1072 45	1892 45	ર્દ્ધ ફ	-5948 45	£ 4	-6529 45	
394	4189 394	394	394	-5058 394	-7759 394	-5320 394	3730 394	4166 394	-811 394	4151 394	-1906 394	-6412 394	4169 394	-6949 394	
4567 275	1974	4572	-2834 275	4654 275	-6513 275	-1206 275	-3477 275	2138 275	-1004 275	-983 275	1027 275	-6118 275	-2714 275	-6804	
.2403 ·	-3587 -720	2409	-3447 -720	-2465 -720	-5949 -720	4458 -720	-4564 -720	-3661 -720	-5432 -720	-863 -720	-3661	433 720	-3649 -720	-3458 -720	9/0
1338	-	-325 -466	-2327	1669 -466	-5859 -466	-1991 -466	-5465 -466	-4587 -466	-6303 -466	-2673 -466	-2337 -466	-1110 -466	-2183 -466	2467 -466	rabelle 3, Blatt 3/9
4678 ·	2450	4684	963 210	-4761 · 210	-7815 210	-1677 210	-1616 210	. 44- 210	4423	1147	352 210	-6240 210	587 210	-6901 210	Tabelle
960	406 -626	432 526	-1804 -626	-1194 -626	.6546 -626	* -4952 -626	-5508 -626	-2129 -626	-6257 -626	* 66° 68	4643	* 979- -626	-1791 -626	540 -626	
-3792 106	-1378 -526 106	-1378 -3796	-1378 -2821 106	-1378 -3887 106	-1378 -4102 106	-1378 -4712 106	-1378 -3603	-1378 2269	-1378 -4534	-1378 -2716	1916 470 198	-1378 -5600 -106	-1378 -1378 106	-1378 -6387 106 -1378	
-1893	-701 -4097 -399	-2056	-701 -701 -701 -701 -701 -701 -701 -701	-701 -5013	-701 -1893	-701 -4813	-701 -1752	336	.2136	4058 4058	4 8 8	-707- -6466 -8466	4076 399	-701 -1604 399 -707	•
433	-5111- 190	3969 3969	-1115 -4550	-1115	-1115 2064	-1115	-361 -1115 -5759	-1115 -4892	-1115 -6477	-1115 -4875	-1115 -1179	47.5	4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-1115 -1252 -381	-
-5083	4 28 45	5089	-894 -2546	934	-894 -1924	494 4910	3 8 2 6	2 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-894 -1527	463 4	95 48 5	-894 -6525 -6525	2 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 4 5 8 6 8 4 5 8 6 8 6 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-894 -7120 43	5
-5719	233 12065 -1380	12065 -5724	233 12065 -1346	.12065 -1253	233 -12065 -7990	-12065 -5323	-12065 -3578	-12065 -945	233 -12065 -3960	45 45 48 48 48	-12048 491	-7042 -7042	-12065 -156 -156	-12065 -7592 233	C0071-
-3200	-500 -11023 -488	-500 -11023 -3207	-500 -11023 -1196	-300 -11023 -3277	-500 -11023 -6573	-300 -11023 -4354	-11023 -4943 -1023	-5001 -11023 -4571	-500 -11023 -5060	-11023 -11023 -1555	-590 -11006 -4572	-500- -11023 36	-1023 -4558 -4558	-11023 -4635 -500	C2011-
														-149 -2161 -149	
<u>-</u> -	2	, , m	4	s	, , 9	2	, , 60	. , 6	, , 0	1	, , 8	, , e e	4	, ເນ , ຕ	. <b>•</b>

36	37	88	39	9	<del>2</del>	42	43	44	46	47	84	64	50	
-218 -249	-3925 -249	2201 -249	-4072 -249	-4075 -249	96 -249	-263 -249	-2869 -249	-2292 -246	-2736 -249	-3708 -249	361 -249	50 -249	-4067 -249	
-3666 -294	-294 -294	-4386 -294	<b>-</b>	-294 -294	-294 -294	-3757	-3552 -294	-2974 -295	-3646	5255 -294 -	4303	1382	4746	
1652 -369	945	-1060 -369	-1613 -369	4196 -369	-678 -369	-3195 -369	-979 -369	-338 -370	-3025	-1471	495 -369	-242 -369	488 -369	
194	-1925 117	117	-637 117	-302	459	735 117	45 117	269 117	-1715 117	-905	-2712 117	819 117	807 117	
-1302 359	4605 359	914 359	55 359	-914 359	359 359	504 359	-1778 359	644 359	-1382 359	-2625 359	-137 359	-1260 359	22 359	
-1396 96	- 5089 - 5089	-3095 96	-1098 96	-1400 96	-215 96	-1822 96	-284 96	447 95	-1954 96	96 96	-2546 96	428 88	1235 96	
-1129 - 45	4899 45	-1254 45	-2272 45	-2273 45	-772 45	-1275 45	1860 45	494	-734 45	-385 45	383 45	159 45	1003 45	
-4956 - 394	.5523 ·	•	4166 394	1201	194 394	-267 394	-226	39.64	. 2482	-1213 394	394 394	394 394	4169 394	
-4518 - 275	•		-715	3036 275	2273	1007	. E &	897	1962	-2355 -2355	1492	-2734	536 275	
- 41 - 720	_	3222	3660	-720 -720	3593	-2663	-2457	-1880 -1880 -1890	-72733	-3291 -3291	-3186 -3186 -720	3612	1409	4/9
248 -466	· 	1377	4587	-466 -466	-2300	-1313	ş 2;	-2805	-3463	-466 -1027	-2023 -2023	-1569 -1569	-1440 -1440 -466	Tabelle 3, Blatt 4/9
140	5277	2644	51, 414	367	-2246	05. 05.	-111	210	210 -1203	210 689	2051	2° 86' 9	210 -725 210	Tabell
1189	· 		-626 4642	-626 -4646	4574	-626 -3645	-626 -3438	-626	-627	-626 -4263	-626 -615	-242	-626 -119 -626	*
-248	105 1378 4436	106 -1378 -2937	106 -1378 570	106 -1378 -2733	106 -1378 1065	106 -337 -1734	≅ <del>4</del> 8	106 -953	105 -28 -107-	106 -2026 303	106 -185 1342	4726 465	106 -1378 885 106	-1378
	389 -701 - 2370	88 5- 6- 10- 6- 10- 6-	399 -701 -452	399 -701 -1946	399 -701 1166	399 -2265 1158	399 -5207 1508	399 -5379 845	398 -5694 -1761	399 -407 -3717	399 -3058 -3775	399 -56 1230	399 -701 -908 -908	-20
-388	-381 1115 -56	-381 -1115 1807	-381 -1115 3174	-381 -1115 -4895	-381 -1115 -4824	-381 -1115 -3894	-381 -1115 -3688	-381 -1115 -3110	-381 -4913 -3659	-381 -1115 -4517	-381 -1115 -880	-381 -1115 -1260	-381 -1115 96	-115 -
4985	43 -894 5655	4 43 4 43 1 1 4 43	£ \$ 4	.894 369 369	-894 142	894 899 899	43 43 53	8 8 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	2 4 %	8 43 8 43 8 43	-894 -120	-894 731	43 1388 1388	-894 43
. 1721	233 2065 6262	233 12065 2121	233 (2065	233 12065 362	4329	233	233	233 -1256	232 23	233 -1535	233 -11650 2253	233	233 -12065 -1116	233 -12065
2801	-500 1023 -1	-500 -1023 -	-500 11023, -	-500 11023 -	-500 -1023 -	-500 -500 10949	-500 -500 -9872	-500 -9617	-500 -500 -1761	-500 -500 -7357	-500 -10608	-500 -10641	-11023 -4560	-500 -11023
557	-149 -1 -1	-149	-149	-131/ -149 -1- 584	-74	-149 -180 -	-149 -258	-1897 -149 -786	-1320 -145 4000	-1645 -149 -624	-2/43 -149 -1	- 149 - 149	-149 -1- -3100	-149 -1
ď	7 , 0	- , , G	ю ю	თ , , c	<b>?</b>	4 .	4.	4 w , ı	4 ' ' '	4. R. 1.	4 . D · · p	4 .	4 4 80''0	

<u>ب</u> بع	22	53	<b>.</b>	. 55	<b>9</b> 5.	25	88	69	8		62	ន	2	
-4062 -249	285 -249	-249	798	34	183 -249	-2486 -249	1915 -249	-1370	-3413 -249	-3676 -249	-3773 -249	-209 -249	421	
4739	-3814	-294	-3668	-29 <del>4</del>	4347	-3108	-2676	-1816 -294	-4095 -294	-294 -294	-294 -294	-294	4953 -294	
-254 -369	1148 -369	-260 -369	-593 -369	260 -369	-1625 -369	-2441 -369	-2134 -369	886 -369	479	-978 -369	-3897 -369	-4126 -369	-4391 -369	
1279	14 11	-73 117	3320 117	1286 117	-1052 117.	114	-1082 117	1429 117	-2380 117	-1303	1896 117	-837	-3684	
554	3740 359	 329 329	4004 359	-880 359	493 359	1536 359	-1002 359	-1199 359	-1067 359	165 359	-881 359	636 359	359	
930	•	619 96	•		1913 96	930 96	. 717- . 96	•	1057 96	1682 96	-2526 96	-304 96	-3662 96	
814	722 45	1442	4279		-1943 45	-894 45	-257 45	-782 45	-1615 45	-602 45	-1969 45	2 th	-1258 45	
	394 4775 .	•	•	394 394	•	-2738 394			•	.3770 394	1321	329	4754 394	
-1344 -4	•		_			•	-	-		•	•	1620	1368 275	
-	-720 2575		•	-			•••			-3265 -720	3366	-720 -3593 -720	-746 -720	ற
2538 (	•	·					-		•		•	4520		3, Blatt 5/9
,	210 -703	. 1					•				7		•	<u> </u>
•			•	•							· · ·	•	•	
•	•	•	•	•	•		•	•	•		•	•	. 4	
27.2	106 -1378 3032			106 1 -1378 5 1453							•		·	-
17													1 399 5 -198 7 3185 7 300	
9	-381 -1115 439	-381 -1115 -4895	-381 -1115 -243	-381 -1115 -4892	-381 -1115 -415	-381 -1115 -3099	-381 -1115 -2771	-381 -1115 -1461	-381 -1115 -610	-381 -1115 -4496	-381 -1115 -4595	-381 -1116 -1410	-381 -1115 -707	\$ <del>+</del>
į	-894 4044 4044	43 669 669	43 -1804	43 1153	504 504 504	-894 -1035	43 -894 1978	43 -894 -1034	-894 615	-894 -249	43 484 1673	8 8 <del>8</del>	43 -894 -2956	-894 45
													233 -11990 403	
													-10947 -4838	
													- <del>1</del>	
	0 1 1	- , , c	, , , ,	, , , ,	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	 	7 1 1	~ , , a	າ ເຫ	, , , C	)	- , , ,	3 9	. t

	92	99	29	89	66	20	7	72	73	75	76	78	79	8	18	
	674 -249	1346 -249	-4055 -249	-3338 -249	1250 -249	.3395  -249	-4074 :-249	-3369 -249	2272 -250	-3243	-5028 -250	-1309 -249	-845 -249	-3384	-249	
_	1942	-294	4735	1543	4629: -294	163	4757 -294	4052 -294	-2953 -296	-294	-29 <del>6</del>	-1672 -294	4495 -294	2649	-4755 -294	
	2648 1 -369 -	-6724 6 -369 .	-1784 -4	. 369 -369	1122 - -369	2065 -369	-4196 -369	-1418 -369	-2385 -368	-3409 -369	4841 -368	. 633 -369	-369 -369	820 -369	-4194 -369	
	105 2	-7532 -6 117	956 -1	-68	1595	1271	664	-203	-1245 116	989	-3663 118	-1206 117	284	-1758 117	172 117	
	4005 359	.7179 .7 359	1595 359	4028 359	411	4083 - 359	-922 359	-774 359	1120 359	-1905 359	-3491 363	228 359	-213 359	-1080 359	-661 359	
	4477 -4(	-7320 -7 96	-312 1 96	4500 4 96 4	27 98 88 -73	•	-1334 96	131 96	-1030 95	-2288 96	-3154 95	-2112 96	-2683 96	-945 96	-2819 96	
	-4300 -4 <sup>4</sup>	-6676 -7. 45	-2262 -45	-4323 -4 45	-707 45		-2273 -		480 .		-3494	-1824 -45	-2140 45	-1436 45	-929 45	
		.7780 -66 394	•			•	,	394	-2368 395				282	5 - 5 5	1991 394	
	83 -4971 75 394	•	•	•	-	•			•		-		162	-1534	-1041 275	
	03 -1483 20 275	•		•		•			1858		•	-		-720 -2502	-720 -720	6/6
	0 -2403 6 -720	•	•		•	•	•	•	-	•	•		-622 .	466	2482 466 466	rabelle.3, Blatt 6/9
	-810 466	~ ~	•		•		_			•	•		•		•	abelle.3
	422	7962	210	4700	210	162	210 * . 763-		210	•		•	•	•	-	ř
	1807	-629 -	-626 * -4613		•		•	•	•	•	•	-627 -733	•	•	-626 -1497 -626	_
	3792	106 1378 4105	106 1378 3120	106 2088 3816	106 -1378 -415	106 -1378 -3875	106 -1378 305	106 -1378 -2028	24. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18	104 -28 -1685	106 -26 -3660	•		4010 4010 3621		•
	1921	399 -701 - 7926	399 -701 2001	399 -387 -675	399 -701 4124	399 430	.949 -49	399 -701 2429	399 -3087 -2270	397 -5709 136	399 -5796	397	399 -263	399 399 399 399	299 299 399	.70 10/-
	406	381 1115 1262	-381 1115 4866	-381 1115 3173	-381 1115 2483	-381 -1115 -3223	-381 -1115 -1268	-381 -1115 -4190	-381 -1115	-382 -382 -6038 -413	-381 -1115	-382 -6038 -6038	-381 -1115	-381 -1115	3 -381 4 -1115 7 -4893 3 -381	-1115
	082	894 894 804	894	43 -894 	84 g	43 43 455 	£ \$ £	43 -894 553	84 8 6 84 8 6	8 4 4 8 8 4 4 8	-894 -894	-352 -25 -25 -27	-894 -894	46 43 43 7	3 -1454 3 43 5 -894 5 917 3 43	-894
	718 -5	233	233	2 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	733 733 733 733 733	233 233 2065 2787	, 233 2065 2065	233 1236	533	1522 -2056 -2066	2287 233 -9427	-3346 -9427	233 -9573	1991 233 11861	233 -4976 23 -12065 72 -685 00 -233	-1691
	ς.	223 23 24 2	8 8 8 8 8 8 8 8		023 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150	. 500 500 100 100 100 100 100 100 100 100	. 500 -500 -1023	574 -500 1023	3869 -500 0226	2766 -501 -523	.3593 -500 8385	-3802 -501 -131	2000 -500 -8531	-4282 -500 10819	4 -3305 9 -500 1 -11023 7 -4572	11023
	<u>ج</u> و	3 4 L 5	\$ & \$! \$ <del>!</del>	. 10	149 <u>149 149 149 149 149 149 149 149 149 149 </u>	700 4 149 4 1	125 149 140 140 140 140 140 140 140 140 140 140	149 1799 149 149	149 1736 -1	727 - -148 3941	2095 - 149 - 6	3370 - -150 3549	1261 -149 -6	892 -149 -1 -	-874 -149 -1 - -357	-536
	č	የቲ ¦	6.	두 두	¥ 7	7.	ਜ '	ጉ ' '	ፕ ' ፕ		m · ·	<b>.</b>		<b>ω</b> , ,	۰. ۰ 8	
		60 44 ' '	ເຊີ້. ຜ	9,,	67	8	<b>Б</b> , ,	7 0	7.			7	7	7	7	

•

8	8	· <b>જ</b>	89 .	8 ,	8	9	. 6	93	94	. 65	8	97	86	66	
<u></u>															
3580 -249	3359	-249	-2661 -250	-2771	1485	1812	4584	5-249	4039	53	236	-1166 -249	-249	1464 -249	••••
253	294	3635	2967 -295	3453	1903 -294	4716 -294	4919 -294	4736 -294	-294 -294	4076	3938	-2943 -294	4684 -294	-294	
•	•	•	•	•		-	•	•	-847 -369	-273 -	•	658 -369	872 -369	-369 -369	
	. •	•	•	•				•		117		1115	898 117	-235 -	•
•	•	•	•				•		-				.592 359	359 359	
•			•	-			•	-		-	•	<del>- 8</del>	342 96	ස් සි	
-					•							501 45	. 45	938 45	
	•				·				-	+	•		•		
•	•		·	-	-		•	-	•	•	•	•	•	,	•
877 275	. 1660 275	47 275	-1209 274	196 275	-3416 275	977-	-6303	-272( 278	4990	-1006	4850	272	72	92	
-3153 -720	-2934 -720	-2539 -720	-2313	-2359 -720	1415 -720	-3613	-3511 -3511 -720	.347 -720	-2896 -720	-442 -720	1877	-3532 -720	-3585 -720	-3651 -720 7/9	
-1437 . -466	-1696 -466	-3462 -466	-3036 -465	-3281 -466	530 466	767	-2106 -466	-252 -466	-1692 -466	893 466	280 466	-1771	-2336 -466	4575 466	
444 210	-556 210	1203	1835	-1020	-731	636	6490	2534	-837 210	356 210	4960 210	738 210	-2283	-621 210 Tabelle	
1448 -626	3887	3512	3062	3332	-2156 -676	4547	626 * 104 804	4595	369	-179	2161	-140 -626	929 429 439	-1718	
,	•	3 th 28 th	-37 -37 -36	539 1433 1433	385	5486	106 -1378 -5389 -406	85. 86. 86.	-1378 -3923 106	-1378 -3193	-1378 -4093 106	-1378 2442 106	1139	2623 1013 106 -1378	
	•														
139	.500 -500 -10488 -335	-500 -10207 -3448	-500 -9720 -2189	-501 -761 -3267	-500 -9452 582	-500 -10259 -272	-500 -11023 -522	-500 -11023 -4545	-500 -11023 -3714	651- 621- 4	-500 -11023 192	-500 -11023 856	-500 -11023 -4492	-500 -10972 -653 -500 -11023	
<b>o</b> n	1 1 0	, , =	, , 8		4	, , 40	, , <u>,</u> , , ,	6	, , &	o	, , 0	1 1 <del>L</del> 0	ı ı·2	e o	
	139 903 1067 -4364 1116 2881 -1448 -444 -1437 -3153	139 903 1067 4364 1116 2881 -1448 -444 -1437 -3153 877 1160 -1812 -2358 -2514 -2565 -571 -500   233 43 -381 399 106 -626 210 -466 -720 275 394 45 96 359 117 -369   10488 -2216 -894 -1115 -3008 -192 *** 335 497 -1714 4146 233 -2042 -3887 -556 -1696 -2934 1660 -3471 -1588 -450 -830 -926 -3452   117 -369	139 903 1067 4364 1116 2881 -1448 444 -1437 -3153 877 1160 -1812 -2358 -2514 -2565 -571 -369 -500   233 43 -381 399 106 -626 210 466 -720 275 394 45 96 359 117 -369 -10488 -2216 -894 -1115 -3008 -192 ***  335 497 -1714 4146 2833 -2042 -3887 -556 -1696 -2934 1660 -3471 -1588 450 -830 -926 -3452 -500 233 43 -381 399 106 -626 210 466 -720 275 394 45 96 359 117 -369 -3462 -10207 -1801 -894 -1115 -4876 -50 ***  -10207 -1801 -894 -1115 -4876 -50 ***  -348 -1830 -230 -3765 -909 654 -3512 -1203 -466 -720 275 394 45 96 359 117 -369	139         903         1067         -4364         1116         2881         -1448         444         -1437         -3153         877         1160         -1812         -2358         -2514         -2565         -571         -369           -500         233         43         -381         399         106         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -10488         -2216         -894         -1115         -3008         -192         -192         -192         -192         -345         -381         -399         106         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -10207         -1801         -894         -1115         -4876         -50         -253         47         -3054         45         96         359         117         -369	139         903         1067         -4364         1116         2881         -1448         444         -1437         -3153         877         1160         -1812         -2358         -2514         -2565         -571         -369           -500         233         43         381         399         106         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -10488         -2216         -894         -1115         -3008         -192	139         903         1067         -4364         1116         2881         -1448         -444         -1437         -3153         877         1160         -1812         -2358         -2514         -2565         -571         -369         -500         -500         -500         -233         43         -381         399         106         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -926         -3452         -500         -500         -304         -115         -3008         -192         -86         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -362         -372         -2534         1660         -372         275         394         45         96         359         117         -369         -369         -359         117         -369         -369         -372         -253         47         -3054         45         96         359         117         -369         -369         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -369         -372         -270         275	139         903         1067         4364         1116         2881         -1448         -444         -1437         -3153         877         1160         -1812         -2536         -5514         -2565         -571         -369         -560         -571         -369         -560         -571         -369         -572         -575         394         45         96         359         117         -369           -10488         -2216         -894         -1115         -3008         -192         -887         -566         -1686         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -10207         -1801         -894         -1115         -3008         -192         -166         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -1507         -1801         -894         -1115         -309         66         -321         -1203         3462         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         -534         -180         -36         -36         -372         -721         274         398 <td>139         903         1067         4364         1116         2881         1448         444         -1437         -3153         877         1160         1812         -2358         2514         -2565         571           -500         233         43         -381         398         116         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1714         2833         -2042         -3887         -556         -1696         -2293         47         -368         46         -361         -372         275         394         45         96         359         117         -369           -10207         -1801         -894         -115         -387         -366         -361         -120         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -366         -372         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -369         -372         -720         275         394         45         96         359         117</td> <td>139         903         1067         4364         1116         2881         -1448         -1437         -3153         877         1160         -1812         -2386         -5514         -556         -570           -500         233         43         -381         -186         -170         -468         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1116         -3801         -96         -56         -1666         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1164         -828         -106         -626         -1666         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -626         -120         -720         275         394         45         59         117         -369           -900         230         -106         -626         -100         -626         -120         -720         275         394         45         59</td> <td>139         903         1057         -3564         1116         2881         1448         1448         1449         -1450         -1815         956         359         156         -551         -571         -566         -720         275         384         455         96         359         117         -356         -571         -566         -571         -566         -571         -566         -571         -566         -466         -720         275         384         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1714         4146         2833         2004         -566         -1696         -720         275         394         45         96         369         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -526         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -526         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117</td> <td>  139   1057   1454   1416   2881   1448   444   1437   3153   877   1160   1812   2336   2514   2865   571   369   359   117   369   359   117   369   359   318   399   306   6256   2166   2720   275   394   45   96   359   117   369   359   317   318   399   306   626   318   3269   326   32</td> <td>660         139         903         106         728         734         46         729         275         394         46         96         359         117         369         106         720         746         720         275         394         46         96         359         117         369         106         720         766         720         275         394         46         96         359         117         369         106         720         760         780         371         196         359         117         369         106         262         210         466         720         275         394         45         96         396         117         389         106         262         210         466         720         275         394         46         96         399         117         399         106         262         210         466         720         270         271         46         360         399         117         369         46         360         370         460         720         270         470         460         305         470         460         720         770         470         470         <th< td=""><td>6 EG         139         603         1067         4364         1148         444         1437         -3153         867         116         508         216         458         270         234         456         369         116         508         210         468         720         237         416         508         361         148         460         369         116         508         210         469         369         117         -369         117         369         417         417         4146         2833         202         126         369         469         469         369         117         -369         417         -369         469         469         469         469         369         117         -369         469</td><td>6.66         1.38         935         405         436         416         136         203         42         201         446         146         202         236         426         200         446         170         416         200         231         43         381         399         146         200         275         344         45         96         354         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         118         389         106         452         210         466         770         275         384         450         469         460         470         460         480         480         460         480</td><td>  1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1,</td></th<></td>	139         903         1067         4364         1116         2881         1448         444         -1437         -3153         877         1160         1812         -2358         2514         -2565         571           -500         233         43         -381         398         116         -626         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1714         2833         -2042         -3887         -556         -1696         -2293         47         -368         46         -361         -372         275         394         45         96         359         117         -369           -10207         -1801         -894         -115         -387         -366         -361         -120         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -366         -372         -720         275         394         45         96         359         117         -369         -369         -372         -720         275         394         45         96         359         117	139         903         1067         4364         1116         2881         -1448         -1437         -3153         877         1160         -1812         -2386         -5514         -556         -570           -500         233         43         -381         -186         -170         -468         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1116         -3801         -96         -56         -1666         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1164         -828         -106         -626         -1666         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -626         -120         -720         275         394         45         59         117         -369           -900         230         -106         -626         -100         -626         -120         -720         275         394         45         59	139         903         1057         -3564         1116         2881         1448         1448         1449         -1450         -1815         956         359         156         -551         -571         -566         -720         275         384         455         96         359         117         -356         -571         -566         -571         -566         -571         -566         -571         -566         -466         -720         275         384         45         96         359         117         -369           -500         233         497         -1714         4146         2833         2004         -566         -1696         -720         275         394         45         96         369         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -526         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117         -369           -500         233         43         -381         399         106         -526         210         -466         -720         275         394         45         96         359         117	139   1057   1454   1416   2881   1448   444   1437   3153   877   1160   1812   2336   2514   2865   571   369   359   117   369   359   117   369   359   318   399   306   6256   2166   2720   275   394   45   96   359   117   369   359   317   318   399   306   626   318   3269   326   32	660         139         903         106         728         734         46         729         275         394         46         96         359         117         369         106         720         746         720         275         394         46         96         359         117         369         106         720         766         720         275         394         46         96         359         117         369         106         720         760         780         371         196         359         117         369         106         262         210         466         720         275         394         45         96         396         117         389         106         262         210         466         720         275         394         46         96         399         117         399         106         262         210         466         720         270         271         46         360         399         117         369         46         360         370         460         720         270         470         460         305         470         460         720         770         470         470 <th< td=""><td>6 EG         139         603         1067         4364         1148         444         1437         -3153         867         116         508         216         458         270         234         456         369         116         508         210         468         720         237         416         508         361         148         460         369         116         508         210         469         369         117         -369         117         369         417         417         4146         2833         202         126         369         469         469         369         117         -369         417         -369         469         469         469         469         369         117         -369         469</td><td>6.66         1.38         935         405         436         416         136         203         42         201         446         146         202         236         426         200         446         170         416         200         231         43         381         399         146         200         275         344         45         96         354         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         118         389         106         452         210         466         770         275         384         450         469         460         470         460         480         480         460         480</td><td>  1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1,</td></th<>	6 EG         139         603         1067         4364         1148         444         1437         -3153         867         116         508         216         458         270         234         456         369         116         508         210         468         720         237         416         508         361         148         460         369         116         508         210         469         369         117         -369         117         369         417         417         4146         2833         202         126         369         469         469         369         117         -369         417         -369         469         469         469         469         369         117         -369         469	6.66         1.38         935         405         436         416         136         203         42         201         446         146         202         236         426         200         446         170         416         200         231         43         381         399         146         200         275         344         45         96         354         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         117         389         118         389         106         452         210         466         770         275         384         450         469         460         470         460         480         480         460         480	1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1,

.

9	101	102	103	104	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	
596 -249	; 326 -249	-3490	1665 -249	-2597 255	-2336	-5952 -249	-2314	1672 -249	1694	422	-760	-249	579 -249	1188 -249	
858 -294	3290 -294	-294	-3297	-3460	-3010 -294	-294	-2901	1867 -294	-3033	-3396 -294	1747	2895	-294 -294	2426 -294	· •
-4174 -369	-3014 -369	-3687 -369	-2730 -369	-2876 -364	-369	-5843 -369	40 -369	-2712 -369	-164 -369	354 -369	651 -369	-36 -369	885 369	979 369	
-1359 117	-1862 117	-2688 117	1287 117	-1592 117	-1317	-238 117	-1485 117	-1671 117	-1768 117	-1882 117	-1341	369 117	-317 117	-1548 117	
843 359	-519 359	1632 359	-1531 359	-1329 364	-1265 359	491 359	87 359	-213 359	-1850 359	421 359	-904 359	68 359	-958 359	-2068 359	
-1193 96	-1644 96	-2648 96	-1372 96	-1653 90	<del>8</del> 8	-955 96	-1401 96	2944 96	-17 96	-1759 96	-1285 96	-224 96	1137 96	-1295 96	
-798 45	777 45	-1914 45	700 45	-619 42	1522 45	-467 45	1275 45	625 45	382 45	-1211 45	1076 45	971 45	-2398 45	4178 45	
-510 394	1197 394	3097 394	-2717 394	-2265 388	-2450 394	-5159 394	-2677 394	-2803 394	-2999 394	-3039 394	1944 394	4047 394	942 394	-4921 394	
1595 275	165 275	170 275	-1260 275	1657 274	420 275	-3559 275	1005 275	-1366 275	348 275	2387 275	317 275	894 275	1040 275	-4458 275	
-3641 -720	-2483 -720	-3279 -720	-2201 -720	-2473 -726	-1912 -720	-5824 -720	1100 -720	-2201 -720	-1872 -720	-2267 -720	-3460 -720	-3514 -720	430 -720	-2395 -720	6/8
4568 466	-1191 -466	4097	-3125 -466	-3273 -470	-799 -466	-6569 -466	-66 -466	-905 466	-2661 -466	-3119 -466	-1665 -466	-114 -466	-102 -466	1289 -466	3, Blatt
482 210	1102 210	- -2097 210	424 210	-969 210	210 210	4334	-928 210	293 210	187 210	-1269 210	-1170 210	758 210	1499 210	4523 210	Tabelle :
-4623 -626	-3462 -626	4084	-3174 -626	-3362 -629	-2870 -626	-6619 -626	-2470 -626	-3113 -626	-2494 -626	489 -626	-809 -626	874 -626	-949 -626	-72 -626	
1661 106	-699 1789 106	-38 98 106	¥ £ 5	-3 100 100	-303 -1016 106	-1266 4264 106	-67 3746 106	8 <del>6</del> - 1350 - 106	-112 -1599 106	-100 -1627 106	-2999 1125 106	-249 -2614 106	-2047 -372 106	-297 106	0017-
753 399	-1381 -2897 399	-5359 -3320 399	-5443 -2623 399	-5540 -1860 401	-2398 -2357 399	-776 3521 399	4472 -2587 399	-4056 -2715 399	-3745 -2914 399	-3895 -2937 399	-193 -1006 399	-2658 -3955 399	8 5 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-1491 -4869 399	205-
585 381	-1115 -3713 -381	-1115 1263 -381	-1115 424 -381	-1115 -3526 -376	-93 -3128 -381	-1115 -6758 -381	-1115 -2810 -381	-1115 -3394 -381	-1115 3110 -381	-1115 -3366 -381	-1115 -1270 -381	-1115 -4731 -381	-1115 -1688 -381	-1115 588 -381	citi-
-686 43	-894 -208 43	\$ 22 E	-894 1845 43	-89- 1841 88	4002 1857 43	-894 -3281 43	-894 -1022 43	-894 -1072 43	-89 <del>-</del> 89 <del>-</del> 99 <del>-</del> 89 <del>-</del> 99 <del>-</del> 89 <del>-</del> 19 <del>-</del> 89 <del>-</del> 19 -19 <del>-</del> 19 -19 -19 -19 -19 -19 -19 -19 -19 -19 -	89 80 83 83	-894 1666 43	-894 150 43	-894 -578 -43	485 435	-89- 469-
1435 233	-718 -409 233	-3326 -1734 233	2885 233 233 233	-517 2505 238	-2137 -1238 233	-9958 -645 233	-710 -33	-10146 318 233	-10302 -1979 -233	-10481 2145 233	-10609 -2912 233	-5643 150 233	-11927 -1522 233	-12038 1900 233	-6189
-4552 -500	-11001 -3393 -500	-9651 -4027 -500	-9501 -3111 -500	-9292 -3278 -505	-1217 1118 -500	-8916 -5377 -500	-10466 -2628 -500	3101:	-9260 1786 -500	3147	-9567 -4357 -500	-10913 -4422 -500	-10885 -192 -500	-10996 -3194 -500	-10996
-17	-1352 990 -149	-154 -2694 -149	590 590 149	-1738 763 -143	-1546 924 -149	4244 -149	-1366 -1545 -149	-4 -1738 -149	-1830 -149	486 43	-1642 -149	-30 -1173 -149	-1 -3107 -149	-1 -3341 -149	7
4 .	ە . ئە ،	, o ,	. 6	, œ ,	ຸ ທ ເ ທ	. 0 0	10 1	10 2	103	10 4	30.	. 9 0.	107	, 66 ,	

132	133	134	135	136	137	138	139	140	<del>1</del> 4	142	143	44		
3839 -249 i	540 249	7065 -249	1076 -249	4259	-249	-3916 -249	1981 -249	123	-101	-3807	-3812 -249	-3803		
 · 	<del>2</del> 4	2.28	4.8	3313	-294	-4514 -294	4725	3630	472- 294-	-294 -294	793 -294	-448		
4396 -294	-4346	-7702 -294	-4874		-		•	•	-	. •				
1173 -369	530	-6356 -369	-4174 -369	-4009 -369	-5531 -369	-1581 -369	-819 -369	1867 -369	1511 -369	1049 -369	-3933	. 451	•	
302	815	-1693 117	-1326 117	4716	-764 117	1002	-3012 117	-536 117	847	-1010	-1349 117	-851		
-865 359	-280 359	436 359	359 359	-5268 359	211 359	-3071 359	165 359	-22 359	926	844 359	-74 359	781		
1231 96	-546 96	-6607 96	96 96	96 96	-6130 96	1741 96	-156 96	-4450 96	-2798 96	-193 96	2020 96	-621		
-851 45	.2623 45	.5224 45	-978 45	-5379 45	733	-1065 45	-1025 45	-323 45	474	482 45	-2011 45	131		
385	•		3834 394	.6164 394	394	956 394	4141	4943	86. 84.	399	1394	2430		
-2962 275	-1173 -775	4536 775	3528 275	•		-165 275	225	4539	5 4 tr	-2448 -2448	2127 2127	2 %		
3236 -2	•						-3630	ار الا	-720 -3626 -720	-718	-3401 -3401	-3384	g	
837 -3	•		•		67.10	-2413	-2223	303	4549	-456 -318	-1-84 -1-84	-466 -2372		
. 2991	•	•		•	· ·		24 453 453	210 4650	210	321	210 -368	210	0	
119	-626 1060			•	20° - 529	-626 -1803	-626 -4608	-626 1242	-626	-626 -4370	-626 -4383	-626 -4352	• •	
2903	106 1984 2964	106 1378 5445	106 -1378 -3382	106 -1378 -3987	106 -1378 -5868	106 -1378 -141	106 -1378 -2707	106 -1378 -3764	106 -1378 368	106 -1378 -259	106 -1378 -2471	106 -1378 -2474	* *	
1216 -	399 -420 4269	399 -701 -	399 -701 4730	885- 107- 877	54 54 54 54	399 -701 -4149	399 107-	389	389 107-	399 -701 799	399 -701 -454	399 -701 1423	* * .	
244	-381 1115	-381 1115 7555	-381 1115 4813	-381 1115 582	-381 -1115 -6739	-381 -1115 1616	-381 -1115	-381 -1115	-381 -1115	-381 -1115	-381 -1115 -115	-381 -1115 -544	• •	
7 850	894 43 894 43 84 43	43 894 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	43 -894 -	- 894 - 894 - 355		-84 43 57 57 57 57 57 57 57 57 57 57 57 57 57	8 8 8	88 43 843 843	5 5 5 5 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7	£ 4 8 4 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	8 43 43 43	626 894 894 894	• •	
77	233	233	233 233 2065	, 285 285 285 285 285 285 285 285 285 285	, 233 233 2065 2065	233 2036 2036	233 2036	233 233 12036	233 233 12036	25 E E E E E E E E E E E E E E E E E E E	1733	233 1 -11773	* *	
		030 500 023 12	414 500 023 -12	250 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 5	1023 1023 1-500	4607 -500 -10994 -1	4254 . -500 . 0994 -1	4540 -500 0994 -,	976 -500 10994 -	4535 -500 10731 -	-500 -500 -731	- 4311 500 1 - 10731	3 · •	
:	149 149 1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-1-	発音 <u>さ</u> 4 . 亡,		1 64 T	4784 -149 -1 -1	3042 - -149 -1 -1	1554 -149 -1 -1	1683 -149 -1 -1	435 -149 -1 -1	116 -149 -1	89 64 -	-2839 -149 -1 -	* * * *	
	о · ·	0 · ·	<del>7</del> '	2	ا ص ، ،	4 1 1		9	7	8 . ,	6	12 0	12 1	

Tabelle 3, Blatt 9/9

						-	~	ന	4	G)	_
				-844	>-	-3593 -249	-282 -249	2755 -249	-2821 -249	-3593 -249	328 -249
				-1988	· 	766	-3182 -294	-3167 -294	-3163	4276 -294	4184
				384		-3713 -369	1681 -369	317 -369	1419 -369	-1759 -369	-3408 -369
				5		423	-306 117	516 117	1224	-348 117	117
					် လ	-566 359	-1684 359	-3516 359	-1376 359	-2500 359	1729 359
					6	-723 96			-3982 96	1650 96	2651 96
					န္ <u>ဗ</u> ဝ	3256 45				1554 45	-2392 45
					ي. د	.3686				394	394
					-142 N	-2229				-743 -75	-2815 275
					-1085 M	25					-720 -3045 -720
					902 -1	8			-15 -15 -15	84 55 69 55 69 55	210 -455 - -2370 385 -3 210 -466 -
					249	9 K		210	210 4181	210	210 -2370 210
				4		b->m -		-626 1011		-626 4165	
Tabelle 4 Angaben zur Erstellung des imm. HWMER 2.0 [2.3.1] NAME alpha-amylase ACC PF00128  DESC Alpha amylase, catalytic domain				-8455		•		106 -1963 278	106 -1378 -3297	106 -1378 2291	106 -1378 -2739 106 -1378
				4							399 -701 851 399 -701
				-8455	•						-381 -1115 -4039 -381 -1115
•				-1000						6 6 8 8 8 8 8 8	
		iD.anກ s.ann		9		D m->d -5356	285 233 -5739	-5230 233 -11500	233 233 -11527	-5221 233 -11527	233 233 -11527 -3114 233
ic domai	~.	ann SEE HMM_!	_		đ.,	'⊼ *					-500 -10485 -3803 -500 -500
ngaben zur Erstellung voor runn. 2.0 [2.3.1] alpha-amylase PF00128 Alpha amylase, catalytic domain		yes hmmbuild -F HMM_Is.ann SEED.ann hmmcalibrateseed 0 HMM_Is.ann 54			4455 4 4 585 4	-218.894150 0.155025 A C m->m m- -36	-1605 -149 -28		-1209 -149 -1 ·		-149 -149 -149
ngaben zur Ers 2.0 [2.3.1] alpha-amylase PF00128 Alpha amylase	•	build -F	2797 -82.0 -82.0	-81.7 -81.7 -82.7 -82.7		8.894151		~	ო	4 , ,	ι ο ι ο ι
g 2 g 8 g	464 Amino no	yes hmm hmm 54	2797 -82.0	82.	;	<u>5</u>					

---

....

	60	0	5	<b>=</b> .	. 4	5	<b>4</b>	. <del>1</del>	6	1	19	۲,	23	83	•
-3409 -249	1332 -249	-3210 -249	686 249	-169 -249	-3242	-3279 -249	-3266 -249	-249	822 -249	-2237 -250	-1714	2020	2948 -249	-5570	
4250 -294 -294	4275	4434 -294	-3874	-294	1820	-3961 -294	-3940	-294 -294	-3081	-2919 -295	2362	-1558 -294	3621	5743	
-3568 -369	-1924 -369	-3332	-3313 -369	-922 -369	-893 -369	-3398	-963	-864 -369	-2523 -369	-2356 -370	187 -367	-1532 -369	-1631 -369	-5961 -369	
-4659 117	-68 117	-500 117	-208 117	-195 117	1384	587 117	-130	-3056 117	329	635 116	1192 <sup>-</sup> 117	-1094 117	-1276 117	4785	
-4986 359	119 359	-673 359	359	-35 359	1520 359	1690 359	-2195 359	458 359	-1313 359	1298 358	1266 359	1211 359	-1376 359	-4656 359	
-6161 -96	382 96	1149 96	170 96	-2232 96	88 86 86	96 96	-2039 96	.2969 96	86 96	656 95	-576 97	-1099 96	1164 96	4 114 98	
-5797 45	544 45	-1408 45	226 45	-1695 45	-1519 45	-1479 45	463 45	102 45	970	1050 44	-31	-661 45	-787 45	4302	
-6017 394	-3686 394	-3300 394	394	-3528 394	2148 394	-671 394	-3381 394	-3945 394	2468 394	318 393	-1889 393	394	-2490 394	-5444 394	
-5813	1248 275	1805 275	504 275	654 275	-232 275	1965 275	2669 275	1868 275	1351 275	-875 276	1334 275	-983 275	-1188 275	4630 275	
-3124	425	-2800 -720	-2780 -720	-489 -720	-2794 -720	-2866 -720	-2841 -720	-3801	-1990 -720	-1825 -721	-1251 -721	-1184 -720	-1264 -720	-5801 -720	132
-1435	4 4 4 4 5 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-3725 -466	-3707	-919 466	-3694 -466	-916 466	-1468 -466	4670	-2915 -466	-1002	-2136 -464	-1890 -466	-1991 -466	-6413 -466	rabelle 4, Blatt 2/32
-6493	1059	229	799	-1746 210	* 862 210	. 123 210	276	-2381 2381	551	479	-79 211	210	210 210	-3624 · 210	Tabelle .
-946.	4163	-3781 -3781 -626	-3763 -626	-3520	-873 -626	-948 -626	-181	4742 4742 626	-2970	-2804	-2122 -623	-1776 -626	-1843 -626	-6660 -626	
4848	301 301 301	-1378 -1867	-104 -1850 -1850	-2316 -2112	-161- -1966- 106	-133 -1939 106	£ 45 25 4 6	-131 -2603	8 8 8		269 269 269 269 269 269 269 269 269 269		•	93.4 106 106 136	
-1492	399 -701 -3593	-701 -3204 -3204	2378 2378	-323 -1144	3240 -3303 -3303	-3527 -3280	-3527 1478	.3527 -3526 -3666	.3928 -2404	4922 1	-5023 -1787	-5259	-3229 -2393 399	3702 3702 399 4348	<u>}</u>
4401	-381 -1115 -4412	-381 -4030 -4030	-361 -4012	-3837	-361 -3978	-1115 -4097	-1115	-381 -1115 -4951	-381 -4115 -3222 -3222	-1115 -3055 -3055	-5562 -2409	-1107	-30- -1115 -1514	-115 -115 -381 -381 -381	-
														-894 -4756 -43 -43	
-7039	233 .11527 -2467	233 -1840 1318	-11055 95	233 -2495 3319	24 58 58 58 58 58 58 58 58 58 58 58 58 58	-116 125 125 125	-11161 102	233 -3211 3087	233 -1020 -1279	233 -2818 145	52- 57- 57- 57- 57- 57- 57- 57- 57- 57- 57	-2758 -2758 -1203	233 -8757 880	-9336 -4752 -233	-1000
-4497	-500 10485 -4092	-500 10485 -3710	-500 -10013 -3691	-3619 -3619	-500 -10204 -3694	-500 -10119 -3777	-500- -10119 -669	-500 -10119 -4662	-500 -9955 -2900	-500 -8976 -2735	-501 -996 -2136	-500 -442 -1851	-500 -7715 -2091	-500 -8293 -5007 -500	<b>1</b> 696
-1460	-149 -1015	-149 -474 -798	-149 -754	-149 -283 -2420	-149 -87 -1036	-149 -1310	-149 -2309	-149 -166 507	-149 -983 -1432	-149 -224 347	-150 -3921 -806	-149 -3106 -1101	-149 -10 456	-149 -7 -4548 -149	-923
~	.,,00	, , თ	. , 2	=	2	, , <u>t</u>	'' 4	. , 42	6	4	. , 🕾	'. ' <del>6</del>	8	2 .	•

24	;	52	ţ	77	ê	8		83		၉		32		ç	3		38			9		44			45		4			53		3	ň			
-2247	647-	-1803 -248	į	-2101 -249	1	-2175 -249		1661	OF 3	-1989	-251	-2149	-249	•	-1308	167-	.1985	-250		-3935	-249	2033	240	213	-2035	-244	1001	236		-1390	-249		-1660	647-		
29272		.2316 -296		2655   - -294		2230 - 294		2434	<del>1</del> 87 .	-2586		. 2820	-294		4088	-282	2724	-295		4068	-294	. 0	0907-	ţ	-2775	295	- 6	202	167-	-1794	-294		3129	-2A		
•	69c-	-1479 -2		-22e		. 2235		-1647 -		- 9781-		•	-369		-1562	-370	0	2927	3	-2799	-369		-1990	200	-2187	-370	•	-1956	-3/2	493	665		-1730	-369		
۲۰	111	1299 -1		1252 -		1091 -2		40 -			121	077				116		- 972 - 442		•	11		1554	117	9101	11		-836	121	613	=======================================		-674	117		
1244 -12		1294 12		1473 -1		525 1		-1229	329		360		24.	3		358		-835	202		359		<del>.8</del> 91	328	979	9 9 9		1096	357	5	350	}	-628	329		
•		•		-		-929			96		86		626- 936			95		404			96 96 ?			96	ç	9 9 8	3	1666	ጷ		-1420 96	9	407	96		
	2 36	2 -1242		.5 -1296	<del>2</del>			-630 -11			24		1105 			\$ <del>1</del>		-116 1			886 84			45		. 2872 A5		-113				Ď.	å	3 5		
	45	-742		17		4 1628		_			-															-1948 2			396		1812 -1	39		394		
.2345	394	455	395	508	36	-226	394	228	39.	. 6	394	}	-2269			295		1442			3791			394												
333	272 275	774	276	-1168	275	853	275	Š	275	1	1155	3	2015	275	,	926	2	-283	278		-2515	2/;	470	275	i	1280	27		273		-1214			1410		
ç	720 -720	1134	-722	1499	-720	1765	-720	ģ	250		-1446 555	77)-	-1720	-720	į	<u>5</u>	77)-	-1674	-721		-3211	-720		2801-	24	-1721	-721	000	25.	3	<u>\$</u>	-720		-1225		3/32
	2756 - -466		465	. 202	-466	0890	8 <del>8</del> 8		2062 466	}	-751	<del>6</del>	-360	99		-1896	465	2550	466	}	-3965	466		-2454 466	ğ	-2589	466	9	7667-	2	-1183	466		-2120 Age	<b>5</b> .	Fabelle 4, Blatt 3/32
	674 -2 210	* 12	24	•	52	• 6	210		6 6	2 *	-556	211	433	210	•	-73	509	950	211	•	-3291	210	•	4 5	21.7	-347	213	• !	-193	5	-1215	210	•	1304	21.7	Tabelle 4
	2808		' 83 '- 83		- 979-		.2742 -626	3 *	-1897	979	301	-624	. 4te	5,5	*	-1800	-627	* ;	-2615 -	770-	-3699	-626	•	-2424	-626 •	-2639	-627	•	-2418	-629	2029	-626	*	-2139	• <del>*</del>	:
	540 -2	3 4 5	5 5 5	4	141 106						188 189	\$	4 5 5 5	4 4 4 4 4 4	3 8	-762	5	-112	-540	5 2	3414	199	-37	-749	충 6	0 / G	5	99	-538	1	-/5 130	108	-113	-358	<b>5</b>	<u>4</u>
	-55 1	5017	349 307		445 65 1-	920	780	338 929 929	632	399	2231	397	5076	2171	289 8076	1555	397	3740	1663	398	200	668 399	-5295	-1787	33	4278	388	-5334	1600	403	4299	1001-	3735	-1688	333	-1998
	125	-381 -1115 -5	$^{\circ}$			115	992	381 114	12	381	5. 25 5. 35 5. 3	385	. 287	2924 -	-381	1714	-382	433	2841	-381	5016	285	1115	2705	-381	-1115	387	5058	-2670	-383	202	-1367	1444	-1115	-381	-1115
	78 1	. 43 -894	62 9	4 6. 	32 -2	. 1- 25 1-	371 -2	\$ 5 	588 588	£3	894 553	₹ 4	-19 -	325	£ 5	455	44	947	1847	4	<del>4</del>	3276	3 6	897	<b>4</b>	89°	<del>5</del> 5	? 4	F 87	4	-2921	-1375	5 6	-884 1728	4	-894
	5	233 -3303 -8	න <u>.</u>	. 22 22	8 8	7 3 3	. S	88	7 6	38	2 2	្ត ខ្ព	. 29	33	33	, . 1 83	- 20 20	33.	000	234	490	 573	233	3 £	233	643	220	232	7 20	235	1269	1748	83	8164 541	233	8743
	7,	2 2	~		3 12	9 6	3 4	0	9 Y	. ~	မှ မ	3 2	, <u>e</u>	.¥.	8	구 ; 있	; ;;	5 6	5. 6	: 8	ය ස	57 -3	6 3	4 5 5	8 8	<u>1</u>	646	2	γ · Ω <u>0</u>	2 2	232	852 -	200	8 5	3 <u>6</u>	55
_	-2742	-8772 -8772	-198	ς, <del>.</del>	-221	ଜ୍ୱ	-267	ଜ	-862	3 2	-862	7 26:	<del>,</del> <del>,</del> ,	-26	ξ	 	<u>-</u>	ភ្	- «	, c		9,18	O	F- 7	0 0	7	6	·γ΄ `	უ ; ლე	7 T	. G	· 60		15 c	<b>ቴ</b> 6 ነ ,	10 -7
	740	-149	1093	-148	164	-149	-1203	-149	ά	-149	ιņ	333	3784	, S.	-146	-1468	-116	-12 12 13 14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15	200	2 4	261	-127	-14	٦ <u>(</u>	179	, 15°	Ď	Ļ	8 6	\$ \$	÷ 79.	4	÷	1 6	×o ₹	· '
	22	١.	, ຊ		. 43		۲,	3.	. 8	€.	•	21	• 1	, %	١,	•	53	•	, 8	ક		31	•		33		33	•	,	34	• •	35	•	. :	8	

-249 3735 -249 -249 -294 -294 1284 294 -294 4266 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -292 -294 <u>29</u> -369 -369 -369 -915 -369 -369 -369 -369 369 -369 -369 -369 -369 711 117 -2558 117 117 -85 117 117 -823 117 117 359 359 359 359 359 359 -95 359 359 359 2791 359 359 88 96 96 96 96 .2336 96 96 96 96 96 45 1818 45 .3831 45 45 45 45 -108 45 6118 45 45 45 394 394 394 394 4479 394 8 8 394 394 394 394 394 394 275 275 275 275 275 275 275 275 275 275 275 -720 \$ 5<sup>2</sup> .384 -725 .3181 -720 -817 -720 -1368 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 466 -289 -289 -2012 -466 -466 -5236 -466 -5236 -466 -66 -66 -7614 -7614 -7616 --894 -895 1080
233
-9995
660
233
10089
1094
233
-10272
-6105
-6105
-6105
233
-6123
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7498
233
-7757
-732
-733
-7757
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
-7336
--149 -

20	7	74	75	92	12	98	87	88	88	8	9	95	83	40
-2850	-3593 -252	4195 -249	-5384 -249	-3595 -249	-3595 -250	-2867 -249	-6696 -249	2078 -249	-3828 -249	69 -249	-6228 -249	2050	-5137 -249	-249 -249
866 294	4275	3633	897	4277	4278	294	7108 -294	-3252 -294	4510 294	-3379 -294	-6741 -294	5623 -294	-5182 -294	-294
-2167 -369	-714 -4 -372	-1236 -: -369	-1773 -369	-1108 -	-3717 -	-2194 -369	-6340 -369	2155	-3919	348 -369	2423 -369	-6021 -369	1290 -369	-3381 -369
117	40 119	-171 117	117	52 117	-386 118	-1516 117	4961 117	472	2930 117	-151 117	-170 117	-6602 117	-217 117	1511
.1877 - 359	-593 360	.1575 359	.7629 359	-1596 359	378 360	-3401 359	4650 359	-3598 359	-250 359	-520 359	<b>-6742</b> 359	-6378 359	-6294 359	359 359
-3835 - 96	-851 95	•	-7081 96	-2342 96	-1051 95	-3763 96	-5877 96	4070 96	-2610 96	-3437 96	-7338 96	-5787 96	-6450 96	-4625 96
9 4 8 3	-97 46	-872 ·	6330 ·	929 45	435 44	-3501 45	-140 45	-3893 45	-2038 45	-533 45	-7112 45	1984 45	-6001 45	4323 45
4423 394	699 393	4014 394	394	-3689 394	1224 393	-4397 394	-5670 394	4557 394	-3879 394	4268	-7060 394	-7002 394	-6641 394	394 394
-3894 - 275	840	-1139 · 275	-7944 275	74	1061 279	-1246 275	-1046 275	4156 275	1252	3423 275	-7004 275	-5711 275	-6732 275	233 275
273 -				•	-3184 -721	2191	-6605	-132	466	176	-3597	-5291	1608	783 -720
2295 466	•		2680	4109	4111	2098	-73 11 466	-2606	4333	-2818 -466	4 4	-1756 -1756	2037	210 400 4592 -1531 210 466 Tabelle 4, Blatt 5/32
1076	•		7642	2745	145	225	-5436 -5436	4267	694	210 -3255	-7153 -7153	2 * 600° × 5	6715	210 210 . *
695		. 466 466 7	2396	4164	4167	§ 168	-626 -7338	2081	4376	-626 -2494	3081	-5892	2298	-626 -3617 -626
145	106 1378 2252	1378 193-	-1378 -6742	-1378 830	-1378 -2254	-1378 560	106 -1378 -5181	106 -1378 -3389	106 -1378 -2487	106 -1378 1204	106 -1378 -7445	106 -1378 -3585	-1378 -6044	106 -1378 -4173 -106 -1378
4369	-	-701 -701	399 -701 -8240	986 107- 570	707-70	85- <del>28</del>	399 -701 3748	399 -701 4510	399 -701 555	399 -701 1140	399 -707-	399 -701 -7063	399 -767-	399 4330 399 701
-2710	-381 -1115 -4413	-383 -2304 -1049	-381 -1115 174	-381 -115 414	-381 -1115 -4416	-381 -223 -2738	-381 -1115 -7234	-381 -1115 1996	-381 -1115 -4626	-381 -1115 -2940	-381 -1115 -4920	-381 -1115 -2190	-381 -1115 122	-381 -1115 -4047 -381 -1115
4242	43 945 545	43 -327 -1552	43 -894 -7836	43 -714	43 -894 794	-2807 -2807 -2807	43 -894 4255	43 -1394	43 -894 -2113	-894 -3461	43 -894 -7167	43 -894 -528	43 -894 -6959	43 -894 -4848 -43 -894
428	233 11527 2782	240 11527 702	233 11527 -8423	233 -11527 -2468	233 11527. 1980	234 -11527 1042	233 -11527 -3869	233 -11527 -5299	233 -11527 1152	233 -11527 -4036	233 -11527 -7476	233 -11527 -6657	233 -11527 -7496	233 5 -11527 2 -5290 5 -11527
2795	-500 10485 -4092	-502 -1590 -3261	-500 -500 -5426 -5426	-500 -10485 -4094	-10485 4095	-501 -5599 -7775	-500 -10485 -5401	-500 -10485 -2769	-500 -10485	-500 -10485 -2941	-500 -10485 -4256	-500 -10485	-10485 4587	-506- -10488 -506- -10488
28	149	-150 -583 -2739	-149 -1 -	-149	-149	-34 -35 -34 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35	-149 -149 -1	-149	-149	-149 -149 -1-	-149	-149 -1-	-149	-149 -1269 -1269 -149
S	4 , , 2	3.,2	, , ኢ	3 , , g	86	; , Q	8,,0	39	3 8	g	3,,8	3 , , 5	5 , 8	6 9

92	96	26	86	66	00	5	2	501	901	107	901	109	110	4.	
-6836 -249	-5492 -249	2169	-359 <b>3</b> -249	-2498 -249	-1765 -249	1085 -251	-1367 -249	-2668 -249	-2835	1105	-3574 -249	648 -249	-1910 -251	1044	
-294 -294	-5951 -294	1665 -294	-294 -294	-3163 -294	-2099	-2988 -296 -296	3508	-3260	-3462	-4106 -294	4245	4014	2554	-2562	
-1240 -369	1900	526 -369	-1818 -369	-183 -369	1248 -369	-2416 -371	862 -369	402 -369	1437	-28	-1532 -369	-3453 -369	578 -371	-1846 -369	
4047	4483	-28 117	-537 117	323	-1732 117	9 2	1170	1132	-801	-322 117	170	-568 117	-940 116	-1123 117	
-3825 359	.5945 359	-303 359	-1385 359	-1453 359	-2432 359	949 362	-2013 359	489 359	-396 359	2571 359	-326 359	479 359	692 359	359	
- 5963 - 96	- 96 - 96	-3968 96	-152 96	-1307 96	-2846 96	-1076 94	-2446 96	-1733 96	-1766 96	-2452 96	-2358 96	-2079 96	725	-1029 96	
509 45	-6423 45	618 45	799 45	2129 45	1633 45	-527 46	-2239 45	-1204 45	334 45	969 45	248 45	1738 45	-215 44	-499 45	
4130 394	394	-4470 394	.352 394	-2633 394	-3380 394	1707 392	-2982 394	-190 394	-899 394	-3755 394	2730 394	394 394	-2082 396	572 394	
-5051 275	-6403 275	1332 275	-601 275	2667 275	-2943 275	1536. 276	2323 275	570 275	952 275	-2348 275	-540 275	1724 275	798 274	1037 275	•
-5889 -720		-1911 -720	-720	-2060 -720	-718 -720	-1891 -722	435	164	-2338 -720	67 -720	-3144 -720	1961 -720	-1448 -722	1556 -720	32
-6774	-3617	-639 -466	-2213 -466	-2964 -466	1010	-2811 -467	643 466	-2950 -466	-1745 -466	-3834 466	-1959 -466	-1529 -466	-2336 -467	-2254 -466	, Blatt 6/
6122		4156	1661	-803 210	893	570	-2581	-1258	421	-740 210	-903 210	-325 210	2146	-553 210	Tabelle 4, Blatt 6/32
-6474 -636	2424		4164	-2981 -626	1966	-2855	360 4	-186	437 -626	-3769 -626	-1615 -626	-3903	* -2329 -628	-2151 -626	
5862	-1378 -6322 -6322	-1378 -3289	-1378 326 106	-1378 1083	-51 -2215 -2215	8 6 5 5	4 8 5 5 4 8 5	-647 2621	-220 -1655 -1655	-5023 -2337	-1378 -547 106	-1378 99 106	-152 1916 1916	485	3
4440		24.25 10.45 10.65	.3593 -3593	-285 -285 -285 -285 -285 -285 -285 -285	4835 -3348	2321 2321	2933 -2933	-1 58 68 68 68 68	2824 700 309	3 4 4 8 8 8 4 8 8	-707- 1882 882	596 -25	-1985	34 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	2017
. 6753														300 - 1643	01 L-
•														-557 -648 -43	
														239 -9309 1350 233	
														-501 -2294 -500	
-1240	149	-149 -1 -	-149 -1 -	-149 -1356 - -1559	-149 -188 -1792	-149 -91 -1348	-147 -4027 -1398	45 45 45 45	-149 -3 1379	- <del>1</del> 49 -48 -3	-149 -1625	-1458 -1428	-149 -1921 372	-150 -2157 1078 -149	φ
29	89	69	. , 2	٦,,	2	, , ຂ	4	, , 2	92	٠. ٤	87	62	, , &	25 .	•

115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129
586 -249	1312 -249	3646 -249	-249	-377 -249	-3593 -249	4874 -249	68 -249	-2821 -249	1751 -249	-6167 -249	4054	2168	-3576 -249	-2770 249
3117	.3289 . -294	3835 - -294	3566 -294	1896 -294	4268 -294	-5332 -294	3763 -294	1008 294	-3990	-7280	2046 -294	.4268  -294	4259	-3119
.2555 -369	888 -369	-971 -369	-1321 -369	-3356 -369	-1529 -369	-8017 -369	-4791 -369	303 -369	665 -369	-6580 -369	-5902 -369	-1293 -369	-3698 -369	1299 -369
-1401 -:	1403 117	.2625 117	-1573 117	327	-2571 117	-7664 117	-4588 117	1879	1253 117	-5057 117	-6877 <sup>-</sup>	688 117	-1214	-212 117
1813 - 359	.1806 359	1681 359		-2604 359	-221 359	-7573 359	4603 359	-3509 359	431 359	1074 359	-6653 359	.2503 359	493 359	4
848 96	-1680 - 98	-2419 96	4784 96	-2483 96	835 96	-7762 96	-291 96	-3980 -3980 96	1137 96	-5802 -5802 96	-6780 96		•	٠,
717	-		-3872 45	477	-1811 45	-7730 45	2387	-1144 45	801: 45	-3990	-6136 45	**		Ÿ
2523	892	-3744	-5163 394	-3773	340	-7408	-5620	1915 1915	3805	-5333	-			
1555	669	436	894	819	-2248 -2248	-7492	4314	275 -4068	-2438	1976	•			•
-2024	861 861	-723	4205	1397	-3172	757-	233	-720 509	-720				•	1 -720 1 -1867 5 -720 7/32
-2949	3004	4148	4801	-450 -1593	466 -1785	-466 -7590	4709		•			1	•	466 3 -389 -1 3 -466 4, Blatt 7/32
-675	210	210	210	210	210	210	210	210	210	210				' . F
-3003	-626 -2923	-626 + 4191	-626 -4659	-626 -3673	-626 -4135	-626 -8217	-626 *	-626 1800		•	•	1	•	-626 -626 -626 -626
1474	106 -456 -1560	106 -5194 -306	106 -1378 -3742	106 -1378 4033				106 -1378 -3296	-				•	-872 -872 -3165 -3165 -412
-139	<del></del> -													399 399 399 438 399 5 -2010
.3253	-381 -1115 -3246	-381 -1115 4446	-381 -1115	-381 -1115 612	-381 -1115	-381 -1115	-381 -1115	-280 -381 -1115	-384 -1115 -25	-781 -381 -1115	-381 -381 -1115	-381 -1115 -007	-115	381 3 -381 4 -1115 4 -1115
. 740	8 43 F	894 43	-894 -894	\$ 43 <del>4</del>	-894 -894 -894	-894 -894 175	- 43 - 894 - 894	85 4 48 5	5 4 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	8 4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-2996 43 -894	-, 43 -894 -894	2 4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	202 3 43 1 -894 7 -1657 3 43 2 -894
5	233 10046	233 10582	-1527 -1527	233 -11527	-891 -233 -11527	-328 -333 -11527	233 233 -11527	3020 233 -11527	233 233 -11527	2718 233 -11527	3602 233 234 -11527	-/550 233 -11527	2333	6 -317 0 233 6 4571 11 -1277 14 -172
	-500 -500 -500 -500 -500 -500 -500 -500	9299 9240 9340	-500 -500 10485	-4768 -500 10485	-3799 -500 10485	-500 -500 10485	-6752 -500 -10485	-5065 -500 -10485	-2705 -500 -10485	-3709 -500 -10485	-6628 -500 -10489	-5996 -1048	-1048	-407 -50 -1046 -50 -1040
	1945 145 145 145	-149 -3	873 -149 -1	4176 44 149	-1132 -149 -1	-1015 -149 -1	-7416 -149 -1	-4666 -149 -1	-285 -149 -1	482 -149 -1	-148 -149	-702 <del>6</del>	-262( -149	316 - 14 - 14 - 14 - 14 - 14 - 14 - 14 -
	8	æ	智 ' '	88	98		8.,	68	8	<b>.</b> . 9	6	g .·.	96 ' '	S

130	131	133	135	136	137	138	139	147	148	149	150	2	152	153
-2027 -249	-2538 -250	-3941	-2632 -249	207	-399 -249	-398 -249	3458 -245	-8752 -249	-6141 -249	-3574	-3606 -249	-249	4244 -249	-3595
-2803	-2844	-3457 -295	-294	1778	-294 -294	-294 -294	1011	-7448	-294	737	1294	294	403 294	4273
-2240	-3074	-3694 -370	2883 -369	-3455 -369	-3735 -369	-3694	-2996	-9303 -369	-5291 -369	-3663 -369	-3728 -369	-4156 -369	-3551 -369	-3708 -369
-1032 117	-2358	-2690 121	-1613 117	-987 117	1324 117	-327	-3702 116	-8516 117	2942 117	93	-943 117	267 117	-5012 117	-2566 117
-857 359	359	-2545 360	-3175 359	-2246 359	685 359	-2504 359	.972 358	-8693 359	512 359	-1552 359	-197 359	-2886 359	-6041 359	-2510 359
-923 96	-1363 96	-3496 96	-3705 - 96	106 96	98	1767 96	-1239 95	-8185 96	-5305 96	1077 96	-2354 96	-2794 96	-6141 96	1456 96
1472 45	4302 45	-3435 45	-3484 45	415 45	-1812 45	1077 45	4509	-8612 45	-4557 45	-1811 45	1321 45	1329 45	-5667 45	1839 45
-1882 394	-2844 393	-3114	-37:14 394	-753 394	2651 394	-914 394	-5245 393	-7614 394	-793 394	-3697 394	-3697 394	4021 394	-6457 394	394 394
2478 275	-1799 275	-3019	-3542 275	1923 275	-909 275	693 275	4706	-8451 275	2043 275	832 275	-1031 275	-2482 275	-6481 275	-2240 275
-1777 -720	-2741 -721	-3905	405	-204 -720	-3203	-611 -720	248 -721	-9067 -720	-5526 -720	2254 -720	-695 -720	-3642 -720	660 -720	-3179 -720 32
-2629 -466	-3149 -466	4384	485	-3850 -466	4129	-2352 -466	656 -467	-9145 -466	-6428 -466	260	4122	-1877	2094 466	-989 -466 Blatt 8/
-340 210	-1247	-3631	3640	-1579 210	-1854 210	1057 210	4991	-8750	4922	1377	-659 210	-288 210	-6508 210	2159 -989 - 210 - 466 - 3 Tabelle 4, Blatt 8/32
-2699 -626	-3343	4433	2486	-3903 -626	-4184 -626	278 -626	-3059 -627	9779-	8315 6345	-1878	4178	4610 -626	-2914 -626	
2013 106	-35 -1778 - 55	5 55 55 5 55 55 5 55 55 5 55 55 5 55 55 5 55 5	35. 35.	-2240 974 106	-3985 -2271 106	-1378 2594 106	-1378 -3425 105	-1378 -7830	-1378 -4820	-1378 -2265	-1378 -2263	-1378 -2619	-1378 -5376	-1378 -2260 106 -1378
-1582	-5364 -2426	350 3719	.5394 -3872	333 339 369	9 <del>2</del> 8 8 8	-701 -1570 399	5 8 8	-701 3865	-704 -1350	.2005 -2005	-701 -258 -258		-75- -686 -686 -686	3602 3602 399 701
-2897	-1115 -2974	-381 -4439 -4059	-381 -4439 -1612	-381 -115 -381	-1115 -4433 -381	115	2942 2942	-247 -247 -8738	-381 -1115 -6496	-1115 -574	-301 -1115 -4427	-1115 -4847	-361 -1115 3516	349 381 -1115
158	-894 -1655	-68 -3307	43 -3786	-894 -520 43	-894 989 43	\$ \$ 26 5	-894 -5401 -5401	-2670 -8550	£4 28 £2 £	. 48 1036 36	2 8 E	5 2 2 3 5	-894 -6835	. 43 . 43 . 894
1898	-2377 -1597	233 -7991 -3004	233 -7991 4160	233 -7991 2901 233	-11228 -534	.11527 . -2475	5916 5916 5916	232 -11527 -8163	233 1704	-11527	233 1904	3047 3047	-11527 -7421	233 -11527 921 233 -11527
-2634	-500 -7252 -2673	24. 24. 24. 24.	-500 -387 -1179	-500 -5949 -3834 -500	4113	4076 4076	-500 -3535 -3535	-501 -5149 -7162	-500 -10485 -276	-10485 -1051	4-7-56 1-6-56 1-6-56	-10485 -4538	-10485 -1220 -1200	-500 -10485 -4088 -500 -10485
					•	•	•		•	-				851 - 49 - 149
26	. , 86	8	5	5 .	102	<del>6</del>	. ' 5	5	, <b>, 6</b>	107	'' <sub>6</sub>	60	. , £	<del>E</del>

_	154	155	156	157	158	159	160	161	<del>2</del> 6	165	166	167	168	169	170
	-3593 -249	-5560 -249	-2869 -249	3593 -249	-3593 -249	-2956 -249	-3626 -249	-3594 -250	1099 -249	-6213 -249	-6132 -249	-879 -249	4952 -249	2516 -249	-249
	-294 -294	5316 -1 294	3212 394 294	4276 -	294	-294 -294	4310 -294	4277	4211 -294	7269	.6437  -294	4297	-294 -294	4941 -294	3169 -294
_	3715 -47	-1221 -369	2286 -3 -369 <u>:</u>	-1701	-709	-1125 -369	-3750 -	-3716 -	-301	-6437 -369	1873 - -369	.3743 -369	2891 -369	927 -369	1788 -369
	790 -37 117 -3	5820 -12 117 -	-987 2 -117 -	225 -1 117 -	240 -	-120 -1 117 .	-2593 -3 117	-2560 -3 117	-3042 117	-4937 117	117	-2591 -	-1543 117	4885	-868 117
		•	.966 -9 359 1	1104 359	-11 3	.3656 - 359	13382 359	607 -2 359	-3147 -3 359	•	-6879 -4 359	-1594 -: 359	-5571 - 359	-6091 359	3518 359
	17 1015 36 359	36 -7412 36 359	·	434 11 96 3	1256 96	-4122 -36 96	-37010 96	-743 96	2466 -3 96	-5831 -2 96	•	1372 -1 96	•	-6253 4 96	
	5 947 5 96	2 -7056 5 96	3 -1047 5 96		-20 12 45		446 -3 45			•		274 1 45	•	•	•
	1276 45	-6322 45	ਲ੍ਹ	896		ဗို			ć,				•	_	•
	-3687 394	-7137 394	4520	3686					=			•	Ψ		•
	1180	-7863	4118	505	-565	4215	354	905	1224	1612	•		•		-
	-3182 -720	3310	1448	-3182	3181	1479	-3218	462	-3119	6482	3054	-3209	-3205	2572	-120 -720 -720
	4109	2757	-612 -612	4108	-1864 466	73.	4143	4110	2 2 3	-7077	-1180	-1561	64 674 884	187	
	466 -		4229	3, 48	1260	4323	1226	901	1571	210	210	3130	510 -6139	-6544	210 -4190 210 Tabelle 4,
	4165	- 520-	-626 2502		4164	-626 -753	-626 -4200	-626 -4166	-626	-626 -7191	-626 3162	4190	-626 2243	-626 2833	-626 -173 -626
	•	•		•		106 -1378 -3442	106 1378 4466	106 -1378 -2253	105 1378 455	106 -1378 -4350	106 -1378 -7387	106 -1378 -196	106 -1378 -5646	106 -1378 -5739	106 -1378 -3305 106 -1378
		• •	399 -701 -4472				399 -701 1262	399 -701 -398							399 -701 -745 399 -701
															-381 -1115 719 -381 -1115
	72 4	84 88 85 84 84 85	43 394 -1 331 -2	534 43 534 43 44 43 44 44 44 44 44 44 44 44 44 4	894 390 4-1	43 725	43 43 729	43 894 669	43 -985 -	88 43 7 48 43	-894 7267	43 -894 1952	-894 -8365	-894 -894 -6825	43 -894 4595 443 -894
	96 10	27 4	85 23 35 46 45 46 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45	223	233 277 16	233	233 527 124	233 527 122	235 527	233 527 052	233 527 600	233 1527 160	233 1527	233	233 1 -5231 1 -5231 10 233 16 -11527
	-6 4	5 -15 2	2 - 4 - 5 - 5	25 - 15 S	1 8 8-8 1 4 7 6	38 57 58 57 58 57 58 57	85 -11. 11.	28888 -11.	38 -1. 3 -1.	5888 5888	8 85 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55	2 <del>1</del> 2 2 3 3 3 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	485 -1.	485 55 11.	500 500 711 500 500
	40	-1048	25.04.5	2 4 4 4	2, <del>2</del> , <u>2</u>	10 + a	3 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	3	ទី ជា ដែរ ស្រីស្តី ស	8 <del>8 4 8</del> 8	7	167	7 4 4 5 7 4 7 1	1.45 5 1.45 5	7.5 - 1550 49 - 500 -1 -10485 90 -2711 (49 -500 -1 -10485
	564	146	24. 1. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. 5.	2 <u>4</u> , 9	84. [	14	-14 -14	-14	E # % 8	ā <del>i</del> it	- 4 - 6	ğ <del>(</del>	50 . 3. ±. 5	4	25 49/3 -149 -1 -149 -149 -149
	113	<u>.</u>	≘ , , ₹	± 4	5	ָרָּיי, יַּ	<u></u>	֓֞֝֓֞֝֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓	<b>=</b> !	7	ž , , <del>č</del>	Z !	7 , 5	2 , , 9	125 - - 126 -

171	172	173	174	175	176	177	178	179	8	181	. 182	183	<del>18</del>	
-249 -249	-324	-6084	427	-8424 -249	-7887 -249	-249	-6703 -249	1492 -249	-3593	560 -249	-3493 -249	1218 -249	750 -249	-249
.7444 -294	-3163 -294	-294 -294	-3192 -294	-7395 -294	-7256 -294	-3326	-6797 -294	140 -294	4275 -294	4263 -294	949	4543 ·	2942	2795
-9400 -369	2047	3649 -369	1465 -369	-9174 -369	-9493 -369	-2318	-5159 -369	-1825 -369	-1325 -369	-1321 -369	-799 -369	-3487 -369	-2372	-2193 -369
-8607 117	-1213	-1808 117	117	-8336 117	-8931 117	2538 117	828 117	742 117	-1029 117	117	-699 117	887 1.17	-1225	-1103 117
-8688 359	-1769 359	-6521 359	-3541 359	-8424 359	-9272 359	359 359	2399 359	621 359	359	1029 359	-287 359	-328 359	-1150 359	-1014 359
-8076 96	-3983 96	-7177 96	-4013 96	96. 96.	-8145 96	55 96	-6089. 96	-643 96	-903 96	-2346 96	-1129 · 96	96 96	864 96	96- 96-
-7951 45	-3806 45	-6970 45	-3835 45	-8282 45	-8576 45	-3300 45	-5833 45	-1802 45	-7 45	385	-1753 45	-1587 45	£ £	-318 45
-7557 394	4476 394	-6944 394	2203 394	-7552 394	-7683 394	4375 394	-5088 394	954 394	-3686 394	-3690 394	1318 394	394 480 480	-2307 394	-2136 394
-7636 275	4072 275	-6853 275	-4101 275	4459 275	-8509 275	-3660 275	230 275	-505 275	366 275	437 275	-846 275	356 275	-805 275	1416 275
-9042 -720	-213 -720	-3609 -720	909	-8951 -720	-9078 -720	3125 -720	96 -720	-3161 -720	-3181 -720	-3166 -720	-3053 -720	-2959 -720	-1855 -720	2728 -720 32.
-9096 -466	665 466	-944 -466	-885 -466	-9057 -466	-9076 -466	-2749 -466	-6626 -466	4081	4 4 66 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	-2342	-1650 -466	-3882 -466	-2766 -466	426 -2593 2 210 -466 abelle 4, Blatt 10/32
-8307 210	4183 210	-7025 210	-4212 210	-8487 210	-8678 210	117 210	-6284 210	-1843 210	625 210	-691 210	-923 210	216	-510 210	426 210 abelle 4,
-9750 -626	574 -626	-452 -626	1709 -626	-9658 -626	-9783 -626	-831 -626	-6377 -626	-4123 -626	-4164 -626	4133 -626 *	-907 -626	-3930 -626	-2816 -626	-2615 -626 Tr
-7495 106	-1378 -3297 106	-1378 -7171 106	-1378 -3328 106	-1378 -7642 106	-1378 5476 106	-3121	-1378 -5822 106	-2269 -2259 106 -1378	-2252 106	3017 106 106	106	24 5 4 5 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5	- 28- 16- 16- 16- 16- 16- 16- 16- 16- 16- 16	42 42 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43
-7098 399	24 55 89 89	-701 -7157 399	-4455 399	-707- -7075 399	-701 -7246 399	399	-701 1671 399	.493 399 -701	399	398	389	399 399 399	1269 399 399	-5116 -1952 399 -5240
-8700 -381	-1115 2004 -381	-1115 -4907 -381	-1115 2039 -381	-1115 -8516 -381	-1115 -8089 -381	-2867	-1115 -6579 -381	4380 -381 -115	450 -381	38.	-1210 -381	4183 -381	-3064 -381	-1115 -2871 -381 -1115
-7396 43	-894 -4588 43	-894 -7072 43	-894 -4616 43	-894 -8023 43	-894 -8503 -43	-3820 -43	6508 43 43	24.5 4.5 4.5 4.5 4.5 4.5 4.5 4.5 4.5 4.5	171 43	-115 43 43	43	-171- 43 43 43	25 E E E E	-894 43 -894
4232	-11527 -5224 233	-11527 -7392 233	-11527 -5251 233	-11527 -7637 233	-11527. -8125 233	4429 233	6380 6380 233	11445 1810 233	1113	1337 233	208 233 233	-3204 -497 233	233 233 233	-1848 1260 233 -9077
-7310	-10485 -2705 -500	-10485 -4206 -500	-10485 -2728 -500	-10485 -7138 -500	-10485 -7286 -500	2003	-10485 -4014 -500	10404 1078 1078 1078 1078	-4092 -500 -500	25 25 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26 26	-3956 -500 -500	-10404 -3868 -500	-2754 -2754 -500	-8501 -500 -8034
-8466	1.05	-202 -149	-1570 -149	-1- -8077 -149	-1 -8777 -149	-1 -2889 -149	-82 1475 -149	293 -149	-1323 -149	-1452 -149 -149	-82 1341 -149	-167 459 -149	24 149 149	-475 1353 -149 -8
127	128	129	. 130	· <del>1</del> 3 ·	132	. 133	' <del>হ</del> '	135	136	137	138	139	. 42 '	, <del>1</del>

186	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208
-1686 -231	-2253 -249	21 -249	-3291 : -249	885 -249	1373 -249	-3593 -249	-6 -249	763 -249	1094 -249	-3192 -249	151 -249	1996 -249	-1766 -249	3252 -249
.2296 -297	2606 -294	3893	3973	-294	215	4275 -294	4099	-294 -294	-294 -294	-3875	-3592	-1721	-2296 -294	1226 -294
•	•	•		•	454 -369	•	-486 -369	-3676 - -369	-3688 - -369	3314 ·	452	1038	-9 -369	-369
1220 -372	-259	225 -369	-688 -369	1238 -369		-1243		•	-	•			70 117	63 -3
-803	-141 117	-72 117	-2257 117	622	603	-898	-2387 117	-297 117	48	231	247	-1269 117	F =	
-805 359	-417 359	459 359	-219 359	1858 359	-2853 359	1141 359	1401 359	699 359	-320 359	975 359	336 359	-1846 359	-1181 359	135 359
-670 97	-3220 96	<u>6</u> 8	1139	-3529	696 686 686	-727- 96	-2170 96	-1007 96	1407	-174 96	8. 8.	505 96		7
1549 46	-2979 . 45	2002	-1492 45	-3244	-2359 45	265	-1622 45	-614 45	-1771 -45	852 45	979	-1890 45		
-1971	3816	22.	1280	4203	.3976	-297	11.7- 10.8	639 408	-3665	1163	1995	-2850	-2327	
-564		436	-1928	-3562	275 1631	-242 -242	1137	924	5.5	2037	-1876 -1876	. 2208	861	•
-1164	-1354	-2798	-720 -2878	-720	-720 -2491	R)-	-720	-720 -3148 -35	-720	-720	110		•	-720 -2816 -720 1/32
-2011	465 666 666	-466 -3723	-3804 -3804	-466 -2487	466 -140	-1722 -1722	466 -788	-466 -1180	-466 -1755	-466 -1337	369	•		. 4
1106	210	210 * 973	210 784	210	210	210	210	210	210	210		`7		
640		•	-626 -293	•	-626 - -672		•	•	•	•	•	•	-626 -179	
-555	103 -1200 -2613	106 -577 -1875	106 -385 -1951	106 -901 279	106 -3484 -299	106 -1378 -236	106 1378 49	106 -2384 -2233	106 -776 -2230	106 -776 -1851	106 -108 -1859	106 -92 -1624	<b>5</b> 4 8 €	106 -1657 -1934 106 -2793
	399 -825 -3761	399 -1601 -3216												399 -550 -3274 399 -225
-2257	-379 -495 3508	-381 -1115	-381 -1115	-381	-381 -1115	-381 -1115	-381 -1115	-381 -1115 -429	-381 -1115	-381 -1115 -1115	-381 -1115 588	-381 -1115 -1786	-381 -1115 775	-1115 -1115 -4025 -381 -1115
776-	43 1784 3609	.894 498	5 4 5 5	£ \$ \$	2 4 4 5 4 5 4 5 4 5 5 5 5 7 7 7 7 7 7 7 7	843 843	\$ 45 £	48 48 48 69 69	-132 -834 -894	8 4 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	43 43 43	43 484 864	4 4 4 4	64 89 4 4 89 4 4 89 4 4 8 4 4 8 4 4 8 4 4 8 4 8
	232 384 384	233	1084 1084 1084	233 11175	233 11340	233	233 233 -2953	1012 233 -11328	23 -1501 -1501	233 1915 1915	233 233 233 2346	7, 23, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7,	352	233 233 -954 -46 -23 -1114
5	205 5	500 -500 -500 -500 -500	-500 -500	-3789 -500 10133	-2632 -500 10298	-322 -526 -500 -10485	4692 -500 -10485	-3944 -596 -596 -596 -596 -596 -596 -596 -596	264 264 264 264 264 264 264 264 264 264	-10455 -10455	85. 50. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10.	2 6 6	25 65 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55	-849 -849 -372 -56 -1009
i i	-863 -149 3199	-149 -2	-258 -149 -2	375 - 45 - 2	480 -149	-149 -149	735 -149 -201	456 -149 -2	606 -149 -2	-149 -446	199 -149 -105	-2161 -149 -1289	356 -149 -135	414 -149 -6 -6 -2293 -149
!	142	143	44 ' '	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155 - 156 -

508	210	211	212	213	214	216	221	222	223	224	525	528		230
-3562 -249	-3591 -249	3644 -249	3076	249	-1882 -250	-2477 -246	-2876 -249	-2978 -249	-2933 -249	396	583 -249	1930 -250	878 -250	
-4245 -294	-4273 -294	3651	392	-3157 -294	-2552	5731 -296	-3540 -294	-3663	-284	2038	1726 -294	-2759 -295	-2670 -295	-2985 -294
-3684 -369	-1229 -369	-2136 -369	-1763 -369	369	-1974 -370	-2563	-2946 -369	-3102 -369	-2961 -369	929 -369	-369 -369	369	-2086 -370	-2411
-343	-92 117	-1205	374	-877 117	-870 117	-3190 124	-1878 117	209	-197 117	-1519	-1228 117	-1202 117	-984 116	735 117
374 359	-152 359	-3446 359	-716 359	467 359	-819 358	-3721 358	-579 359	-1881 359	-749 359	326 359	-18 359	1631 359	578 358	-146 359
1582 96	-2341 96	-3866 -96	-131 96	-3570 96	1041 95	811 102	1608 96	-1730 96	-101 96	1463 96	266 96	-1111 96	-792 95	-1078 96
-11 45	1057 45	-3647 45	1070 45	-716 45	-114 48	-3265 44	-1136 45	890 45	-1239 45	-1054 45	.848 45	-531 45	-223 44	1242 45
457 394	-3687 394	4423 394	-940 394	-839 394	505 393	4583 392	-720 394	2752 394	1374 394	-2771 394	-2512 394	-2322 394	393	1812 394
-972 275	894 275	-3930 275	107 275	610 275	-551 275	-3944 274	-1571 275	-230 275	-1673 275	-1474 275	-1261 275	1424 275	2156 276	385 275
-3151 -720	-3178 -720	-1920 -720	48 -720	-1911 -720	-1454 -721	-2102 -722	-2437 -720	-2571 -720	-2471 -720	-1548 -720	-1144 -720	-1644 -721	-1575 -721	-1887 -720 /32
4078	4104 466	-2566 -466	-3982 -466	8 <del>8</del>	-2368	-9- 467	-1045 -466	-3496 466	-3361 -466	-2323 -466	441	-2497 -466	-2483 -467	-2806 -466 Blatt 12
492 210	546 210	210	. 485 210	-3527 210	, 1092 210	-2773 209	932 210	141 210	-200 210	1980 210	295 210	-611 210	280	253 -2806 -181 210 -466 -77 Tabelle 4, Blatt 12/32
4134	-244 -626	496 -626	-4021 -626	2092 -626	-2402 -627	-722 -628	-3361 -626	-3551 -626	736 -626	-367 -626	17 -626	-2438 -626	-2514 -627	708 -626 -
-2221 106	-2128 -2253 106	-1378 -623 106	454 106	-337 1129 106	-337 -568 -105	86 65 619 5	25 25 26 26 26	485 157 106	-128 -1680 105	-75 -1385 106	2322 106	4 8 5	5 5 5 5 7 7 8	-262 1428 106 -587
1922 399	-375 -1508 399	-701 -253 399	-1890 -3507 399	-2264 -1395 399	-2264 352 399	-1006 -573 397	-2653 387 399	-1807 -2959 399	-3554 2536 399	4297 -690 399	4838 399 399	-5043 99 43	-5139 -1980 399	-2593 -2328 399 -1580
4383	-1115 -716 -381	-1115 1305 -381	-1115 939 -381	-1115 960 -381	-1115 867 -381	-5471 -2478 -375	-554 2742 -381	-1115 -76 -381	-1115 -3638 -381	-1115 -82 -381	-1115 -2072 -381	-1115 -2734 -376	4100 476 •377	-5634 -3104 -381 -1115
-350	-894 -254 -254	-894 -4338 43	-894 -671 -43	-894 -3797 43	484 44 45 45 45	4382 42 42 42	-1648 -1266 43	48 403 403 403	-293 -293 43	-894 -1234 43	-894 -1044 -43	-894 -585 -585	-87 677 47	-29 579 43 -894
527	-11490 2756 233	-4400 -1074	-5247 -1061	-11419 693	.361 -791 232	-2219 -5235 -234	-3688 -426 -233	-2475 1563 233	-10730 -1920 233	-1549 277 233	-1978 496 233	-2500 528 233	-3213 1476 234	-9308 -1208 233 -3259
-4062	-300 -10448 -4089 -500	-10485 579	-10415 1605	-10377 581	-10377 -2360 -500	-539 -3172 -501	-2618 -3339 -500	48.9	-9688 -3357	-9729 -2399 -500	-9127 -1986 -500	-2465 -500	-2243 -2476 -501	-430 -2795 -500 -8878
25	360 - 48 360 - 48	-2856 -2856	4 4 4 4	-1573	.2.81 .591 .44	-3368 -3247	.397 660 64	-288 -2004 -2004	569	- 586 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45 - 45	426 -1289 -149	-285 -1243 -149	-554 -1042 -147	-1964 -1350 -149 -163
157	158	159	. '. 6	191	. 162	. 163	164	165	166	167	168	169	170	

					<b>-</b>										
231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	
-2785 -249	-3323	2118 -249	1883 -249	-3592 -249	-3592 -249	-4 -249	-203	1322 -249	232	-108 -249	1901 -249	-21 <i>77</i> -249	-197 -249	-2111	
-3467 -294	4005	-234 -294	-4209 -294	297	-294	-294 -	-294 -294	4896 -294	4. 29. 29.	1938 -294	2626	-2606 -294	-914 -294	-2813 -295	
-2903	-604 -369	-1248 -369	-1669 -369	-721 -369	-3713 -369	-2547 -369	-3645 -369	-2623 -369	-805 -369	-3331 -369	-1490 -369	-2378 -369	1288 -369	-2249	
-1754 117	776 117	182 117	685	-277 117	-2558	1668	-261	-2582 117	-2465 117	-951 117	-1666 117	-1706 117	-1131 117	-1083 118	
-1696 359	-54 359	-1474 359	602 359	1339 359	-313 359	856 359	-2440 359	-687 359	359	1714 359	-1971 359	-1793 359	-1740 359	1444 360	
98	-2070 96	510 96	-221 96	-2340 96	-161 96	-2982 96	-349 96	-2825 96	776 96	475 96	-2041 96	-125 96	-2179 96	889 89 85	
1554 45	-364 45	-215 45	396 45	717 45	-319 45	-985 45	-696 45	-2357 45	-1708 45	-233 45	-1614 45	-700 45	-1948 45	-289 44	
-2882 394	-1235 394	1475 394	-3669 394	1610 394	2452 394	-1550 394	394	-3922 394	-3597 394	954 394	-3040 394	-2710 394	-2704 394	393	
209 275	2270 275	68 275	-720 275	1312 275	-74 275	1208 275	2707 275	410 275	1359 275	-183 275	1516 275	-1481 275	-2183 275	1169 274	
-2372 -720	-2911 -720	-3029 -720	-720 -720	-3181 -720	-3180 -720	-2265 -720	-3114 -720	784 -720	-3062 -720	-2800 -720	-1203 -720	-1910 -720	-222 -720	-1732	136
-1030 -466	-3838 -466	425 466	909	4107 466	-2357	-154 466	-4039 -466	-745 -466	-1018 -466	-3725 -466	-113 466	-2624 -466	-789 -466	-2643 -1 -467 -	
-123 210	86 210	-813 210	267 210	-668 210	293	-218 210	-165 210	• 677 210	665 210	. 220 210	374 210	2194 210	-2327 210	768 210 210	l abelle 4,
-342 -626.	-3893 -626	-3970 -626	* 72 -626	4163 -626	-1208 -626	* -2692 -626	* -265 -626	-1152 -626	922 -626	-3778 -626	-1618 -626	-2650 -626	451 626		_
-1448	-1333 -1982 106	-1227 -204 106	-1673 662 106	-2104 1865 106	-1378 -2252 106	-1378 -2689 106	£ 23 55	£ % 5	-330 1233 106	-330 1404 106	-113 3226 106	3935 106	-37 2355 106	-131 1333 105 -71	
2235 399	-729 1173 399	83 83 83 83	-543 -3576 399	-382 -1236 399	-701 -955 399	-701 -439 399	88 88 88 88 88	-1898 -1900 399	-2289 1000 399	-2289 240 399	-3733 -374 399	-5012 -2585 399	-5292 -2639 399	-3526 -1997 402 4371	
-3601	-1115 -796 -381	-1115 108 -381	-1115 959 -381	-1115 -512 -381	-115 -441 -381	-1115 1809 -381	-1115 -4342 -381	-1115 1324 -381	-1115 -4278 -381	-1115 1206 -381	-1115 867 -381	-1115 -2813 -381	-1115 3010 -381	-1115 -2942 -379 -5656	
277	8 6 6 43 6 8	984 984 43	23 48 5	28 84 E	48 - 49 - 59 - 54 -	-894 -2796 43	-894 -1860 43	-894 -1101	-894 488 43	-894 -1543	-894 -1929 43	-894 -1434 43	-894 -2703 43	-894 -304 -29	
-343	-10552 826 233	-11213 212 233	-11399 932 332	-11492 757	-11527 1936 233	4386 -3360	-11457 1509	-5163 -1026	-11416 89	307	-2481 -2481 233	-971 -2132 233	-8800 -3256 233	-8800 1948 232 -3129	
-3282	-367 -9510 -3822 -500	-10171 1292 505	-10357 -4012	4092 4092	-10485 -451	-10485 1548	-10415 1368	-10415 -3153	-10374 290	-10374 -3710	-10043 -2015 -500	-8785 2872 -500	2374 2374 -500	-7758 -2630 -501 -343	
545	274	-2513 -2513	4 4 5	-2 -1215 -1215	87.	145	122 - 25	2842 2842 3942	-143 -2526 -2526	486.44 486.44	-1263 -1728 -1728	-1036 -1792	6-1-8	-10 -135 -150 -3365	
172	173	144	175	176		178	179	92	181	182	8 .	, \$2	182	<del>1</del> 86	

247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	269	270	271	272	273	
-1021	1888 -249	-3234	-2875	426	249	-3592 -249	2849	-674	2144	-2255	901 -249	-768 -249	-249 -249	-294 -249 -	
2758	-294 -294	2959 -294	1221	294	4250 -294	4274 -294	4853 -294	-4273 -294	2619 299	3157	4222 294	2947	1920	-294	
. 995 -369	296 -369	-1479 -369	-2411 -369	-1263 -369	-1321 -369	-1544 -369	-285 -369	-3710 -369	-1164 -373	251 -369	-3644 -369	-1236 -369	-1719 -369	1460 -369	
316	-721 117	34 117	-339	-2475 117	1918	-1387 117	-2936 117	1105	22 115	-1505 117	501 117	342	537	1032 117	
-1607 359	-255 359	-1247 . 359	407	2430 359	1892 359	-571 359	-3351 359	1339 359	-179 355	-1533 359	28 359	-1119 359	-1397 359	276 359	
-2039 96	-2529 96	377 96	775 96	-2278 96	-2315 96	877 96	-337 96	-500 96	<b>2</b> 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	1509 96	392 96	-2376 96	-979 96	1309 96	
-1816 45	-2080 45	-360 45	-2242 45	1150 45	447 45	1413 45	-3116 45	419 45	-1902 43	-925 45	-1774 45	-289 45	787 45	494 45	
426 394	-3569 394	-3360 394	-3773 394	-896 394	988 394	.126 394	116 394	-3687 394	-3723 392	-2656 394	-3662 394	-352 394	-3692 394	-915 394	
-2097 275	-270 275	1385 275	-2639 275	462 275	998 275	1953 275	-3482 275	1221	1352 273	-1285 275	1018 275	551 275	1822 275	-1211 275	
-115 -720	-1824 -720	-2803 -720	-106 -720	-3033 -720	-3156 -720	1183	-2334	-3178	-2868 -725	-1733 -720	-3123 -720	-433 -720	-458 -720	-2524 -720	/32
-763 -466	366	-1488 -466	-2837 -466	-1731 -466	4083 466	-2033	-2999 -466	-1611	-2136 -470	-2524	-1214 -466	4007	-1157 -466	-2096	, Blatt 14/32
2140	184	÷593	-2347	938	-571	472	1015	-686	204	-937	-151 210	-1876 210	241	-2404 210	abelle 4,
2394	405	-3744	22, 22, 626	1393	4138	4160	-2699 -2699	3 8	-929 -3617 -513	-2387	636 626 626	4015	-1256 -626	-3036 -626	
-1413	-1269 1783	545 415 415	- 5436 -	1472	-1640 -2227	-2003	-1378 -3014	-1378 946	-1378 -2309	5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	4268 88 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	-2128 -2279	-1378 297 106	-1378 -2591 106	-1378
98	-774 -3494 -3494		2048 1605	2036 2096 2096	858- 678-	414 -1328	85-1- 1186	<u> </u>	-75 -75 -75 -75 -75 -75 -75 -75 -75 -75	-1765 1705	.3569	-375 -681	-701 -3599	-701 1545 399	101-
-875	-381 -1115 17	-361 -1115 2378	-381 -1115 -2988	4226	-1115 -4387	\$ <del>11</del> 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	-1115 -654	-381 -1115 -644	-309 -2697	-1115 -843 -843	1115	-1115 678 678	-361 -1115 -3437 -381	-1115
-2485	64 88 88 s	2 8 4 5 5 5 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-2484 -2484 -2484	5 2 2 2	-205 -205	-894 -1919	.3498 .3498	24 85 E	43 -2049	-2375 -1033	4 8 5 5 4 5 5 5	199 ts	3 8 5	45 -894 -2524 43	-894
					•									233 -11527 -3081 233	
														-500 -10485 -3362 -500	
			•	-										-149 -1 - 255 -149	
													_	50 .	

-249 -249 -302 -249 .3558 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 .249 -294 6886 -294 -294 -294 4240 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -369 .369 369 -369 -369 -369 .1245 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 117 117 117 -699 117 -586 117 117 117 -512 117 117 117 117 117 359 359 359 35 gg 359 .1551 359 2285 359 359 .13 359 359 359 359 359 359 96 96 4129 96 -2823 96 96 සු ස 96 96 -285 96 96 3320 96 -1052 45 -2344 45 16 45 1705 45 45 -852 45 45 394 394 394 -758 394 3596 394 394 88 394 394 394 394 394 275 275 -564 275 275 275 -659 275 275 275 275 275 275 275 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -466 -1755 -466 6721 -466 2182 2182 466 3080 466 466 1539 466 1673 466 4073 466 466 4085 - 381 - 174 -1430
233
2438
351
233
-1297
301
233
10257
10257
10257
10338
11198
1198
1198
11487
233
11487
510
233
11487
510
233
11487
510
233
11487
510
233
11527
3855
233
11527 -500 -500 -500 -500 -500 -9821 -500 -9401 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -500 -9392 -203 203 204 205 205 207 207 210 210 211 211 211 212

																											-							_													
280	3 .		290		.•	291		•	292	}		20%			700	167		Š	400		•	30			306	•	·	307			308		•	309		<i>.</i>	310			311		·	.315				
2507	-2207	2	2080	-249		-264	-249	<b>-</b>	3559	249	}	2630	-2023	<b>?</b>	6	700	047-	1	785	-249	-	1201	-249	<u>.</u>	-3593	-249		1757	-249	) 	1633	-249		2186	-249		-357	-249		2148	-250		-2821	-249	•		
	200	j 	3158	-294		4275	794		4230	204		-000	6 6 6	- Ka	    	67.7 7.7 7.7	[0  -		4243	294		3297	294		4276	294	_	4275	294		417	-294		-3509	-294		4275	-294		4062	-295		3163	-294			
1000	7806-	602	-2176	-389		-3714	369	}	2680		600	7250	اد/ئ- وود	202	į	752	9	•	3184	99		1420	-369		-3715	-369	;	-587	98	3	517	-369		149	-369		-3713	69 69		-2858	-370		1575	-369			
. 6	2007-	=	2462	117	:	536	117	:	2520	2707-	=	0	1292	=	•	188	116		-445	117		-2751	117		-1255	112	:	519	+	<u>:</u>	-1544	117	:	-463	117		88	117		-325	116		-956	117			
. ;	-651	n C C	1878	250	3	400	250	) ) )	. 60	n (	n C C		္က မေ	AC SS.		<del>.</del>	360		4538	326		-714	359	}	210	3,50	3	2500	920	600	-3407	3.50	}	-679	329	:	-1480	359		670	360		-319	329			
	-517	5	3046	9	2	A A		20		က် ရှင်	S	ļ	-2379	8		-1255	83		-5031	တ္တ		2202	g	3	A0A	3 8	3	α O Y	Ş 6	08	3076	9	3	-237	95	1	309	8	3	-1991	56	3	-3981	96			
	-1810	45	900	8 4	<b>?</b>	433	3 4	t Ç		-1757	<del>5</del>		-1826	45		77.1	5		-4849	45		787	Ą	}	4700	ָ בּ	?	07.3	ָרָ ס	<del>Q</del>	963	2 4	?	1024	45	?	-1792	45	}	-1457	4		-3803	45			
	-3699	394	ŭ	200	đ N	9000	9995	4	į	-3651	394		2711	394		-1618	393		-5394	394	3	4774	200	5	000	200	<b>\$</b>	0000	9	384	4473	2 5	t no	1626	306	5	-3686	307	5	3276	300	3	-4475	394	;		
	3227	275	170	- i	C/7	6	619	2/2		3577	275		971	275		-306	280		-5054	275	ì	2497	240	213		ני) ר	C/7	į	50 40 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	275	ţ	5/2-	C/7	1261	275	3	1611	2 4	617	1883	275	2	4070	275	i		
	440	-720	Ş	-183	-720	;	-3181	-720		25	-720		-3220	-720		4	-723		2606	720	3	760		07)-	Ģ	-3182	-/20	;	13	-720		2185	07/-	376	2 5	77.	2180	3 5	2/-	3010	724	17)-	2050	220	3	132	į
	-4082	-466	i	<b>.</b>	466		-116	466		4072	-466		4146	466		-2472	466		933	486	}	3000	C7/7-	8		4109	466		-1668	466		636	8	ć	000	8	0	0 0	ş	3000	2070-	è	1100	98	3	ohelle 4 Blatt 16/32	:
	495	210	*	4087	210	•	-158	210	•	-279	210	•	-639	210	*	85	209	*	5173	3 6	2 *		5051-	210	•	1025	210	•	366	210	•	-1151	210	• 6	200	017		071	210		-13	717	4470	213	<u>.</u>	Pohollo 4	2000
	-1255	-626	•	-2256	-626	•	-1840	-626	•	4127	-626	•	-4201	-626	•	4163	825	•	220	3 8	070-	•	614	-626	•	-992	-626	*	4162	-626	•	2094	-626	• {	977-	979	. 6	7971-	929		4/15-	/29	. 24.2	12/3	•	•	-
,	-2266	106	-1378	2308	106	-1378	-2251	106	-1378	1588	108	-2731	-2284	106	137R	2252	103	1378	277	674	2	-151	-3013	106	-2097	-2252	106	-1378	1269	106	-1378	-3293	9	-1378	-2787	198	-1378	7577-	108	-1378	-1863	E i	4734	7875-	106	-13/0	
	-1778	366	-701	-4433	388	5	396	366	-70	3554	399	-235	300	90,	25	12.4	200	9 5	֓֞֝֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓	ģ.	99	-623	4213	3 <u>3</u> 3	,384 48	-125	333	-701	-1356	399	5	-4423	333	-70	4035	388	, 5	-1776	338	ē	\$ \$	398	င် ငှင်	 9	386	10/-	
	-4380	-381	-1115	-19	-381	-1115	4413	-381	-1115	4379	-381	1118	4450	20.	444	55	7 600	2 6	707-	1402	-381	-1115	-2846	-381	-1115	444	-381	-1115	-4412	-381	-1115	971	-381	-1115	<del>4</del>	ĕ	-1115	4	-381	-1115	473	<u>8</u>	909-	497	-38- 14- 14- 14- 14- 14- 14- 14- 14- 14- 14	CLLI-	
	-1938	43	-894	4455	\$	-894	2089	43	394	99	8	2 2	- 0.4 7.4	2	? ?	9 6	3	3 8	2200	-5505	5	-894	-3574	<b>4</b>	-894	319	3	-894	2053	43	894	4573	43	-894	-1085	€	-894	904	43	-894	1169	4	-1545	-1393	ය <u>ද</u>	-894	
	2150	733	-11527	-5076	233	-11527	844	233	4122	1 5	233	3 ;	-11442 -02	3 8	3 5	/ZGLL-	8 8	734	-3805	9909-	233	-11420	4164	233	-11492	1469	233	-11527	-1137	233	-11527	-1848	233	-11527	-3504	233	-11527	2196	233	-1557	320	234	-10929	-5219	233	-11527	
																			_	_	_			_	_		_			_			_			_			_		_	_			ည်		<b>-</b> .
	4466	1455	}	-2908	-149	7	858	3 6		P	2007-	-149	7 !	incl-	-149	7	260	-147	-236	4	-149	7	65	-149	•	ָ מַלָּ	-149	7	338	975	7	-1252	-149	7	800	-149	7	ල	-149	8	130	-147	-116	880	-149	7	
	Š	717	• ;	218	2 ,		, ,	2		. 6	770	,	. ?	177			22			223			224			225	3	•		677		727	į,	•	228			229			230	i .		231			

316	317	327	328	329	330	33	332	333	336	337	338	339	340	341
-301 -249	-3572	2811 -249	-2874 -249	-256 -249	-3293 -249	1304 -249	-2767 -249	-1082 -250	-2700	992 -249	4130 -249	-2979 -249	-844 -249	-249
-3293  -294	3083 -296	-3157 -294	5347 -294	-3212  -294	294	1014	1650 -294	-1510 -295	-3559 -294	2073	5001	-3322 -294	-6560	-294
871 -369	-3694 -371	-369 -369	621 -369	-383 -369	-3414 -369	-3466 -369	.369 369	1348 -370	-2978 -369	927 -369	-4358 -369	2418 -369	-5826 -369	-369 -369
-1530 117	-33	-3037	-1348 117	-797 117	-2260	491	-2200	-658 117	1284	-1641 117	-3044	-2943 117	4466	4737
359	-1371 358	-3721 359	-3489 359	15 359	-730 359	-2252 359	200 359	-950 359	-1436 359	-2332 359	-874 359	-3668 359	-171 359	-4523 359
-1673 96	805 97	-113 96	73 96	-1731 96	1351 96	655 96	-2465 96	-1069 98	-1746 96	-2804 96	-3239 96	4141 96	4889 96	-6872 96
-3227 45	44 4	-3991 45	-1018 45	-1240 45	-1494 45	607	-1959 45	-65 48	-724 45	-2626 45	1178 45	-3963 45	-3629 45	-6771 45
-4314 394	-3665 395	4674 394	4464 394	4409 394	-3388 394	495 394	-315 394	-2034 393	-2376 394	-3297 394	-3695 394	-4619 394	-5036 394	-5815 394
1063 275	77 274	-4253 275	-3962 275	446 275	1728 275	-1981 275	-563 275	-983 276	1229 275	-2893 275	545 275	4224 275	-3250 275	-5861 275
1459 -720	-3161 -722	408 -720	-1971 -720	858 -720	381 -720	458 -720	-2078 -720	2421 -721	-2571 -720	1589 -720	-4030 -720	262 -720	-5641 -720	-6597 720 //32
359 466	4088 465	1748 -466	429	1655 466	-740 -466	-2157 -466	-2812 -466	-926 -465	-3374 -466	1436 -466	4814 466	-790 466	-6372 -466	-7441 -6 -466 · - Blatt 17/32
799 210	1820 209	-4390 210	+ 119 210	* -3847 210	\$32 210	, 1250 210	210	2770	-1067 210	-3003	-2536 210	-4335 210	304	-7247 210 Tabelle 4,
1080 -626	-4144 -628	-2384 -626	134 -626	1185 -626	-3862	-3915 -626	-2568 -626	-536 -627	3463	1205	4899	2402	-6451 -626	
-3067 106	-1378 1146 104	-1911 1098 106	-1378 -3255 106	-1378 -3201	-1378 -1953	-775 1082 106	-158 -2197	57- 57- 51-	5 <del>+</del> 5 <del>+</del> 5	-547 -2119	-106 -2504	4060 76 106	-675 -3961 106	-2564 -6508 106 -1378
999	134 - 13	446 4633 399	-701 4413	23.4.28	-70. 4	-1267 -569 569	3002	4336 1526.	-3702 -1975	-1665 -3248	3824 2995 300	4578 4578	-1420 -553 -553	-267 3753 399 -701
-2832	-1115 -4393	-191 2467	-1115 -2731	-1115 -1014	4115	4165	-1115 -41	-1115 -1112	-1304 -3628 -3628	-1115 1644	-1115	-1115 472	-1115 -6561 -381	-1115 -6930 -381 -1115
.3685	\$ 55 £	-3012 -4796	4354	-894 -4162	-894 1012	5 8 5	-894 -2116	-894 -667	-749 2247	-3408 -3408 -3408	-894 -1550	4732	-894 -2898 -2898	-894 -7394 -43 -894
														-11458 -7040 233 -11527
-5 <del>7</del>	-300 -4072	-301 -5208 - 557	-300 -2770 -2770	-500 -2762	-500 -10485 -3792	-500 -3844	-500 -10197 -2815	-500 -9899 -1030	-550 -381 -381	-500 -7722 -1527	-500 -9095 4561	-500 -9182 529	-500 -10450 -5784	-500 -10415 -4791 -500 -10485
727	-149 -25 -345	2 4 8 5 2 4 8 5	6 - 9	-149 -1- 578	-149 -352 -2321	-149 -250 -250	-149 -500 -2222	-149 -2227 -690	-149 -2648 -1684	-149 -265 -498	24 4 45 4 4 44	5. 4 ₽	6 8 8 5 8 8 5	-149 -2 -882 -149 -1
														246

342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	354	382	383	384	
92	-6845 -249	-4973 -249	-7548 -249	-2833 -249	-3164 -249	-3605 -249	141 -249	1837	641 -249	-940 -251	-2319	1327	897 -249	988 -249	<del></del> -
3771	-294	4988 -294	-294	-3176 -294	-3509	-294	-3185	-2354	232	-4265 -296	-2995 -288	-2977	-2462	796	
5422 ( -369	7468 - -369	445 - -369	-8427 ·	1651 -369	2448 -369	-3726	-727 -369	1493 -369	-3714	-3696 -366	372	-2372 -369	-1536 -369	-3683 -369	•
6415 -{	6659 -	4979	. 7475 .	1109	-3050 117	-866 117	-2826 117	-2908 117	-2558 117	-1329 116	-1299 113	-1357 117	-99 117	-301	
.6447 -6 359		6199 - 359	•	-1105 359	359 359	-251 359	-1731 359	-3612 359	1631 359	-1133 360	-1244 355	-1317 359	-1807 359	756 359	
9- 6099 <del>-</del>	•	· - 98 96 96	•	•		35. 96	968 <del>-</del> 3896	408 96	-740 96	-2346 96	242 89	98	-1874 96	-564 96	
. 748 - 45 45		-5839 -	6709 ·	-		-1802 45	-3677 45	-3900 45	-609 45	\$ 4	1354 28	-622 45	-1416 45	382 45	
7055		•		•	4697 204	362	4455	988	1215	1013 396	1512	-111 394	.2915 394	1458 394	•
5988 -7	•	•	•			1385	275 -3962 275	4171	572 109- 275	262	-973 -973 -83	2745	1387	494 275	
•	. 720 33 4 36 4	•	-		193	-720 -3193	-720 1252 730	-/20 2830 700	-3181 -3181	5. 8 £	-1898 -1898	-1878	-1252	-3150 -720	. 7828
7 552		-466 1676	•			-466 -2035	482	99 4	85 81 81 81	390	468 -2816 -475	-2768	-1967	-2004 -466	
7173	210 ***		•	·	210		210	210 4281	210 -166	210	585 587 587		210 -1527	1802 210 210	Tabelle 4,
•	-626. 7674 -	•	•	-626	-626	-626 -4175	-626	-626 * 2480	-626 * 4163	-626 -1191	-623	-637	-626 778	-626 4132 -626	•
3668			106 1378 -6618	106 -1378	106 -1378 -3615	106 -1378 195	106 -1378 4521	106 -1378 -3399	106 -1378 -2252	106 -1378 1678	108 -1378 -996	5 4 <u>6</u>	106 -155 -1598	4123 175 106	-2097
. 6667	399 -701 -6618	399	399 -701	98 5-	385 107-	389	398 -707- 088	399 -701 -1479	399 -701 -72	399 -701 -3597	398 -701 -2333	397 4972 -2386	399 -3296 2157	399 -85 1288 399	
ç	3802 - -381 -1115	-381 1115 1115	-381 -1115 -785	-,864 -1115	-381 -1115	-2381 -1115	-381 -1115 72	-381 -1115 -587	-381 -1115 -281	-115 -115 -115	-379 -6554 -3114	-375 -89 -3035	-381 -1115 -2115	-381 1 -1115 1 4382	-1115
	7597 43 -894	-894 -894	694 -894 -894	5 4 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	4589 43 894 894	-2004 -894 -894	-1930 -894 -894	2 4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	5 5 5 5 5 6 6 7 7 8 8 8 8	5 4 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	43 -15 -15	4062	48.	4 8 4	4 8
٠.	7433 233 1527	233 1527	233 233 11527	4192 233 11527	233 233 11527	233 11527	233 11527	233 247 11527	233 233 -11527	1261 233 -11527	-106 236 -572	264 264 -9917	233 233 7196-	1012	-1149
<u>.</u>	5722 -500 0485	-500 -500 0485	4650 -500 -500 -500 -500	-7123 -500 10485	-2715 -500 10485	-2938 -500 10485	-4104 -500 -10485	-2752 -500 -10485	-2788 -500 -10485	-10489	6 6 5	2 6 2	22.05.05.05.05.05.05.05.05.05.05.05.05.05.	5,69	ġ <del>1</del>
	6543 -149 -1	-149 -1-	-5076 -149 -1	-7293 -149 -1	2483 -149 -1	2379 -149 -1	-2633 -149 -1	-2885 -149 -1	-2968 -149	00 t-	14 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15		4-	<u>2</u> - 33	<del>-</del>
	247 .	248	249	250	. 251	752	253	254	. 255	256	257		259	260 261	

你是一個大學在

ja s s

385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	410
-274 -249	595 -249	-3593 -249	-3593 -249	2415 -249	892 -249	-386 -249	-674 -249	-2826 -249	1098 -249	-3470 -249	2108 -249	-180 -249	-2487 -255	-2250 -249
2822 -294	3926 -294	4276	-294	3346	-294	4276 -294	4276 -294	-3168 -294	4276	4153	-3084	-2908 -294	-3166 -264	-2800
-369	403	-1876 -369	-258 - -369	-1132	340 -369	-1172 - -369	-1728 -369	1488 -369	-3714 -369	-3592 -369	628 -369	938 -369	-2597 -368	305 -369
-1281 117	-1339	548	-672	-2832 117	1259 117	246 117	-2558 117	-775 117	407	-577 117	1049 117	794 117	-98 114	735 117
359	-838 359	-362 359	753 359	-1378 359	-2960 359	850 359	-1517 359	-61 359	-1030 359	334 359	-2704 359	443 359	-265 356	1458 359
1061 96	-3927 96	1484 96	-2339 96	-3994 96	1152 96	-1132 96	397 96	-3981 96	167 96	69 69	-2817 96	-2598 96	870 93	-1496 96
-3162 45	1084 45	44 45	934 45	-1135 45	-2549 45	1806 45	-736 45	294 45	-319 45	821 45	-2399 45	-2174 45	-700 41	-980 45
-4293 394	4456 394	114 394	-1007 394	4487 394	-1033 394	45 394	-3686 394	-20 394	361 394	178 394	-3779 394	-3575 394	.50 393	-2734 394
-1257 275	-802 275	-744 275	205 275	-889 275	-1113 275	-380 275	745 275	-4069 275	2049	1664 275	-2778 275	829 275	-1136 277	
439	-1922 -720	-3182 -720	-3181 -720	283	2307	-431 -720	-3182 -720	2698 -720	-3182 -720	-3059 -720	-1859 -720	890	',	785 -720 9/32
-1069	1050	4109 .	4108	142	370 466	4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	4109 466	982 466	4108 466	-3986 -466	-329 -466	-326	122	DI
-1519	4078	1899	417	464		313	1186	4176	1815	-267	232	1235		
319	• •	1				τ			•			•	4	
-292					-1378 813 105								•	-1339 -1339 -210 -210
T														383 4841 1340 399 -2882
														-380 -475 -2635 -381 -1115
														-1835 -163 -163 -1836 -1894
1150	233 -11527 -1621	233 -11527 -707	233 -11527 580	233 -11527 -5233	233 -11527 -1037	233 -11527 1289	233 -11527 1238	233 -11527 -5213	233 -11527 262	233 -3406 462	233 -2489 -1177	233 -2793 -1066	233 -1356 1132	231 -10165 1117 233 231-10165
-2879	-500 -10485 -2720	-500 -10485 -4093	-500 -10485 -4092	-500 -10485 -2717	-500 -10485 -3183	-500 -10485 -4092	-500 -10485 -4093	-500 -10485 -2709	-500 -10485 -4092	-500 -10485 -3970	-500 -10342 -2676	-500 -10060 -2503	-500 -9836 -2978	506 2494 500 1-9123
-1153	-149 -122	-149 -1 -233	-149 -1 499	-149 -1 -2891	-149 -1 -503	-149 -159	-149 -1 1274	-149 -1- 407	-149 -185	-149 -144 1241	-149 -284 625	-149 -226 73	-149 -717 -80	46- 486- 841-
262	7	264	265	. 266	267	588	269	270	271	272	273	274	275	276

411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	453	436	437	
2375	896 -249	-3413 -249	-2830 -249	2512 -249	-208 -249	1386 -249	-5886	-6874 -249	1326	1422	-915 -249	-1999 -237	-3362 -249	-3302 -249	
3528	3886	2039	3175	990 294	134-	-3246	-6934	-7315 -294	2926 -294	4640 -294	4273	2374	4044 -294	-3983 -294	<u> </u>
-2980 -369	-3325 - -369	-1765 -369	1285 -369	-1046 -369	1040 -369	2596 -369	-6301 -369	-7450	2210 -369	-795 -369	-1726 -369	-1213	· -1514 -369	-1623 -369	
-1846 117	2169	-2380 117	215 117	-2816 117	1924 117	-218 117	-4868 117	-6009	-1307 117	-2816 117	-841	1564 115	580	446 117	
-1780 359	691 359	50 359	-364 359	-3498 359	-1828 359	-3602 359	4432 359	-5553 359	-3509 359	-532 359	175 359	1858 358	635 359	518 359	
1325 96	570 96	-2163 96	692 96	-3958 96	-3955 96	4072 96	-5293 96	-6414 96	-3981 96	-750 96	-2341 96	-1945 93	-1027 96	-2060 96	
1163 45	426 45	-1615 45	-3728 45	-3771	-643 45	-3892 45	1419 45	4906 45	-3804 45	-3772 45	1361 45	-1561 44	1765 45	-1511 45	
597 394	1981 394	1566 394	129 394	394	4448 394	-4560 394	-5218 394	394	-862 394	-1510 394	-3687 394	-2261 395	-3459 394	141	
-1452 275	-1839 275	430	4006	4042	-1446 275	4162	-3269 275	-1213	-1502 275	4043	-1104	-1621	712	1208	2
.2456 ·		-3001	1507	2103	1757	207	-6095	-7325	1375	-1913	-3178	-1160 -718	-166 -720	-2887	132
3364	3719 .	-3927 -466	448	-1108	304	239	2189	8777- 848-	-274	-298	-758	686-	-1941 466	-1911	_
- 1072	1641	326	4079	4136	4155	-1723	4391	210 -5596 240	1866	4138	202 2	-1739	-1606	-1553	210 · * Tabelle 4,
3416		-625 -3981	070 688	-1048	-626 1605	580 ° 58	0989-	979 -803e	1435	1399	-1843 -1843	1572	-62/ -3928	-3859	
1510	1028 890 890	105 -1052 -2074	106 -3599 -3269	1378 185	106 -1378 -3270	-2008 -3390	-1378 -4075	106 -1378 -5139	-1378 -1378	-1378 -349	106 -1378 2467	-1378 -1642	-2302 -2025	-169 -169 -1969	5 5 8 8
1869	399 -972 -1118	20 93	399 -124 -166	399 -704 4417	399 -701 -4398	399 412 4516	339 3180 3180	399 -701 -5502	399 -701 -425	399 -701 -1110	399 -701 1367	-701 1184	402 -327 1819	399 -3177 1065	399 -3476
3665	-381 -1115 -4024	-381 -1115 -1111	-381 -1115 834	-381 -1115 3229	-381 -1115 109	-381 -1115 2352	-381 -1115 -6920	-381 -1115 -7732	-381 -1115 -167	-381 -1115 1589	-115 -115 -115 -115	-381 -1115 -2006	-383 -136 -4178	-381 -1115 4111	-381 -1115
-													42 -3476 -225		
													235 -8690 1096		
-3358	-500 -9346 -	-500 10028 -	-500 -10276 -71	-500 -10485 -2711	-500 -500 10485 1323	-500 -10455 -2779	-500 -10485 -6618	-10485 -7026	-500 -10485 -2704	-500 -10485 -2711	-10485 4088 4088	-500 -10485 -1200	-503 -1741 -3859	-500 -10220	-500
													54- 518 883		
Ę		279	2 c	3 3	%	g	38	, , <u>, , , , , , , , , , , , , , , , , </u>	3 , , 8		ž , , 8	3 8	68	8	

438	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453
3427 -250	-1683 -249	-642 -249	-3456 -249	960 -249	43 -249	-288	1040 -249	2051 -249	-341 -249	3212 -249	-350 -249	852 -249	2241 -249	1213 -249
3694 -295	-2155 -294	-294	-4-39 -294	2653 -294	-3087	981	-294 -294	952 294	-271 -294	963 -294	4197	4245	1628	-294
-2280 ·	-1268 -369	-940 -369	-3578 -369	512 -369	1089 -369	-3520 -369	1072 -369	548 -369	-1324 -369	-3650 -369	350 -369	-1729 -369	148 -369	-1139 -369
1095	1741	645	-12 117	-266 117	-86 117	-2365 117	187	-2659 117	1081	439	1437	-1304 117	133	350
359	773 359	105 359	575 359	-2681 359	416 359	21 359	359	.3 359	-19 · 359	-203 359	-2535 359	556 359	-2518 359	458 359
-2723 95	2059 96	-2311 96	-561 96	25 96	-3195 96	2246 96	-55 96	-2813 96	-304 96	-1170 96	\$ 8	-765 -96	962 96	-2757 96
-2326 · 46	-730 45	238 45	-604 45	-2278 45	593 45	819 45	-867 45	844	1139	462	486 45	-1811	-328 45	-629 45
1729 · 393	-2267 394	-1394	557	610	4017	989	603	-137	-766 -766	76	728	-3697	-136 394	394
-1940 277	-1123	27.9	. 6. K	-2673	-3189 -375	1038	-3006	727-	-505 -505	191	906	134	691	942 275
-721			3045	-2058	538	-2987 -2987	-2218	-293	52 52 53 54 55	-3121	-3086 -3086 -3086	-3145 -3145	-3128	-120 1993 -720 1/32
3468 - 467		1498	£ 1001.	84 84 g	g 88 6	576	8 8 8 8 8 8	234	-1404 -1404	4045 55	8 8	1741-	-1244	210 466 - -39 -867 11 210 466 - Tabelle 4, Blatt 21/32
2594 -	-753	-1805	210 - 556-	2390	210	210	5, 44	210 -833	282	210 -116	210 -1888	-1024	210 * 82	
-3255							•	-626 - -1214	•	-626 -1235			-626 -1689	•
-2484	-129 -1003	106 -4437 1129	106 -2128 -2115	106 478 1492	106 -328 -2752	106 435 -2058	106 -1564 -2736	106 -2567 -2595	106 -1378 -2254	106 -1378 -2204	106 -2438 176	106 -1378 1890	106 -350	106 -1378 1555 106 -1378
			399 -375 227	399 -1827 -1167	399 -2297 -3954	399 -1942 -1463	399 -596 1085	399 -267 237	399 -701 -1917	399 -1054	399 -294 -3624	389 176- 1769	399 -701 942	399 701 719 399 701
-3503	-381 -5171 -1899	-381 -1115 -4367	-381 -1115 -4277	-381 -1115 -2916	-381 -1115 -880	-381 -1115 -4219	-381 -1115 -504	-381 -1115 -3429	-381 -1115 -654	-381 -1115 1188	-381 -1115 -1222	-381 -1115 -4353	-381 -1115 -745	-381 -1115 1283 -381 -1115
-2644	.976 -976	8 8 4 5 4 5	-894 -894 2234	44 43 44 43	894 312	£ 2 8 8	-894 -2901	43 -894	8 43 8 43 8 43	-894 -079	43 -894 767	43 -894 -882	43 -894 -1118	43 -894 -2457 -894
-2763	232 -8628 -1527	233 -9122 1864	233	233 2940 1048	233	233 11246	23 1303 1303	233	233 -11527	233 4636 473	233 -11468	233 -11527	233	233 5 -11527 5 -3012 5 -312 5 -11527
-1342	-236 -236 -153	988	500- 10448 848	-500 -500 10326	- 500 - 10157 - 10157	-500 -500 -10204	-500 -500 -10260	-500 -10415	-10485 -500 -10485	264 2685 2685 2685 2685 2685 2685 2685 2685	-500 -10426	-500 -10485	-500 -10485	- 500 1 -10485 5 -3415 9 -500 1 -10485
2610	-149 -2750	2-1-49 8-64	5 <del>4</del> <del>6</del> <del>6</del> <del>6</del>	-149 -203 -203	49 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7	- 49 - 49 - 49	-149 -149	1397	149	41- 64- 66-	26- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26-	24-	146	4 . 64 .
292	, ,	8	φ,	282 	53	)	88	567	300	304	302	S	ğ , , ;	306

•						• • •	٠			•	٠. ٔ	٠.			•							٠.		· •	<b>.</b>		•	• • •	٠,		•			٠.	· ` `	: ;					• • •
			· ·	· .													٠.	3	3	1	43	<b>3</b> .'		·	•					•			•			•	•			•	
454	5		455		456			458		4	<b>5</b>	•	460	}		461			462			463		•	464		785	}		466		. ξ	467		468	}		469		·	•.
3503	-249	 i	1529	4474         -3801         -3979         460         -356         1357         2000         1529           394         45         369         117         -369         -294         -249           395         48         95         360         119         -368         -295         -245           386         -2126         392         916         69         -154         -3006         1234           3982         -2126         392         916         69         -154         -3006         1234           394         45         96         359         117         -369         -294         -249           394         45         96         359         117         -369         -294         -249           394         45         96         359         117         -369         -294         -249           394         45         96         359         117         -369         -294         -249           394         45         96         359         117         -369         -294         -249           394         45         96         359         117         -369         -294 <td< td=""></td<>																																					
7275	-294		2000	-294	4212	-292		-3006	-294		7697-	<b>4</b>	3006	296-	_	4350	-294	_	010	-284		4254	-294		-3603	294	-6	3 6	ž	4266	-294		4172	-294	2722	207	3-	4273	294	· · ·	
274.4	-3/14	3	1357	-369	-601	-368		-154	-369	;	1211	-369	2073	3703-	3	-3789	-369		1077	-369		-976	-369		-2691	-369		766	-369	-3697	-369		662	369	0000	6007-	600	1544	-369		
6	1 6	:	-356	117	1338	13		69	117	!	282	117	9	7 t t	=	63	117		-2845	117		286	117		φ	117	i	2 2 3 3 5 4	117	438 838	117		727	117	4	-2022	<b>È</b> .	204	117	:	
6	939	ŝ	460	359	204	360		916	359		-1354	329		750	n C	712	329	}	-3535	359	,	536	359		-1197	359	. :	-279	328	-215	329		တု	328	. !	/011 <del>-</del>	RC .	5	359	}	
;	-1015 88	D n	-3979	96	0000	26 35	}	-392	96		851	<b>%</b>		-255- -	S	909	8	3	4005	8	3	553	96	;	-1349	96	;	548	96	384	96		-758	96		£ 6	8	4004	<u> </u>	3	
	664	<b>5</b>	-3801	45	0	25c1	!	-2126	45	•	-3272	45	;	-3268	đ Ç	456	45	}	3826	45	2	427	45	2	-2491	45		863	45	269	45		158	42	1	232	5	70	5 2 2 3	?	
,	-1408	Š,	4474	394	6	393	3	.3585	394		-3982	394		-1479	394	27.73	30,45	Š	7400	200		1822	30	3	4036	394		-3981	394	136	394	}	-3725	394		-3947	394	Š	, 2 2 3 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3	r P	
	8 18 18	2/5	1098	275	į	1235 777	3	622	275	i	-641	275		142	275	401	120	6/3	954	2 2	2	22042	275	ì	441	275		951	275	2224	275	i	-396	275		-1146	275		25. 25.	673	
	-3181	-720	251	02.	į	15, 72,	77.	2004	.720	:	1518	-720		2046	-720	0	223	77/-	4030	1837	09)-	2456	2 2	77.	ő	-720		526	-720	Ç	- 13	2	-3056	-720		-542	-720		53.	? ?	.35
	-2123	466	1118	199	٠	-2296	ì	1272	466	3	1102	466		532	466		25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 25 2	ĝ	ŧ	ភូ ម៉	ğ	463	701-	9	1342	4 6 7		-870	-466	1001	1771-	î	-125	466		1197	466		-2211	4 8	Blatt 22/32
•	-1832	210	4178	22	*	-611	£03	, 902	245	<u>,</u>	-3631	210	•	-357	210	•	-1905	210		4204	OL2	5	3 6	2.2	7030	210	*	÷	210	* ;	4.5	2 *	885	210	•	-574	210	•	충 ;	2.5	rabelle 4,
	-1864	<b>-626</b>	1012	979	•	-1403	779-		775- 928-	270-	1221	-626	•	7	-626	•	4239	979	• !	-537	979	, ,	29. 29.	979	0000	-265U	} *	-1378	-626	• ;	2 2 2 3 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4 3 4	979	1134	-626	*	1285	-626	•	-1261	929	-
	414	106	-1378	-2535 106	-1378	-2192	105	-2567	2 G	9 6	2798	106	-1523	-3000	106	-3351	-2314	8	-1378	-3303	108	-1378	25	92 (	-13/8	, 2 2 2 3 3 4 3 5	-1378	1857	5	-1378	-2256	1378	276	108	-1378	603	108	-1378	1186	<u>ş</u>	200
	-662	399	ē:	399	<u>ن</u>	-1341	398	-267	\$ 5	660	1013	2 0	-617	4167	388	-149	-185	366	-79	4450	388	-70	-1402	338		¥ 8	707	Ę	88	5	88	9 6	10/-	3 8	25.	207	388	-701	£	33	5
	4413	-381	-1115	-3 65 -3 65	-115	4348	-382	-5804	1059	-381	2404	-2131	-1115	3055	-381	-1115	-4487	<del>8</del>	-1115	3644	-381	-1115	920	-381	-115	£ 5	1115	202	385	-1115	883	381	511.	27.5	-1115	187	38	-1115	4408	-381	CLLI-
	1573	43	-894	4581 43	-89 5	874	42	-58	495	4 6	400	5 5 5 5	30.5	-3810	43	-894	1181	43	-894	4608	<b>5</b>	<del>-</del> 894	89	£	-88- 98-	-2730	3 8	2594	2. 2. 2.	-894	φ	£ 5	<b>\$</b>	D ?	3 2	-2498	43	89 46	4	43	4894
	1457	233	11527	-5217	3 5	108	234	-1503	-2963	233	10935	4040 0.00 0.00	223 10086	-613	233	11363	2491	233	11527	-148	233	11527	394	233	11527	1186	553	1351	23. 23. 23.	11527	1226	233	11527	ဥ္	233 11527	226	33	11527	-2468	233	11527
			10485 -1				•				•					•			•			•			•			•		•			•			٠.					•
			7		•											•			•			-			•			•		•			-			-					
	•												•																												

470	471	472	473	474	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	
-3593 -249	-283 -249	-1010 -249	-2781 -249	-4269 -250	-2402	-1940 -249	743 -249	12 -249	1369 -249	-591 -249	-3189 -249	1210 -249	-3093 -249	1482 -249	
-4276 -294	-3195	-294 -294	-3452	-4706 -295	-3084	-2366	3483 -294	-3891	294	-294	-3872	2776	3776	-2222	
.1228 - -369	1440 -369	369	322 -369	-3536 -370	-2520	1115 -369	-585 -369	-626 -369	-1063 -369	5 -369	-3311 -369	-1017 -369	-3214 -369	-1755 -369	
-202	400 117	-1331	-666 117	-2222 117	-1370	-1570 117	155 117	-935 117	-51 117	446 117	857 117	-2075 117	969	-720 117	
534 359	20 359	1242 359	518 359	-1961 359	218 359	-1881 359	458 359	425 359	-296 359	14 359	1184 359	86 359	1133 359	989 359	
-205 96	-3855 96	213 96	1381 96	-3520 95	692 96	383 96	-1954 96	751 96	-2483 96	-2091 96	-283 96	471 96	658 96	<del>6</del> 8	•
-720 45	-1121 45	478 45	791 45	-2685 45	1034 45	-1491 45	709 45	1918 45	-2003 45	-1544 45	-206 45	2031 45	752 45	2049 45	
546 394	129 394	-3713 394	-2902 394	3218 393	-2498 394	-2961 394	-3066 394	-3324 394	-3613 394	-3434 394	1787 394	-988 394	-3187 394	-1798 394	
1550 275	-363 275	-2274 275	55 275	2243 277	2083 275	675 275	-1885 275	832 275	-883 275	1912 275	781 275	-1944 275	947 275	2085 275	
-3181 -720	-1944 -720	-3095 -720	-2352 -720	-3836 -714	-1989 -720	1506 -720	-1509 -720	-231 -720	921 -720	-2908 -720	-2778 -720	-2247 -720	613 -720	-1233 -720	3/32
4108	275	-562 -466	-1378 -466	4654	-2914 -466	-1854 -466	4 <del>4</del> 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	-1033 -466	672 -466	-3829 -466	-5 -5 -5	-3052	-823 -466	-2097	Tabelle 4, Blatt 23/32
1050	-3946	57 210	-168	-3135 210	-646	1866 210	-142	745	210	1051	469	-1580 210	159 270	1349	Tabelle 4
4164	-70	-1596 -626	532	4556	-2967 -626	-1567	.5. 626	146	-389 -389 -826	. 418 4. 45	-3760 -3760 -626	623	-3664 -626	-2144 -626	
<b>4</b> 8		-1378 605 106			_									8 5 5	
575	.701 -701 -1982	25. 107- 88. 88.	25- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26- 26	.4529 1586	-1602 1017	4118 -2890	.2560 -1027	-925 -1338 -1338	2687 1948	-1687 1049	-3306 -257	-3810 -582 -582 -583	-3279 -343	4043 -1691	4530
4414	-1115 1303	-381 -1115 2076	-3561 -3561	-1115 -4644	-372 -4787 -456	-381 -1115 2376	-1115 -1115 2146	-1115 -920 -920	-1115 -3010 -3010	-301 -1115 -624	-1115 -4010	-1115 985	-3913 -3913	-1115 -2376 -381	-1115
641	-894 -1789	2 8 4 5 4 4 5	3 49 <del>1.</del> 44 5	-894 -2154	5 et 5 et 5	-894 -1796	2 8 5	2 48 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45	- 894 - 965 - 65	2 <sup>2</sup> 2 2 3	269 269 269 269	. \$\frac{\partial}{2} \text{ \$\frac{\partinu}{2} \text{ \$\frac{\partial}{2} \text{ \$\frac{\partial}{2}	4894 676 676	. 43 kg 4 4 kg 4 kg 4 kg 4 kg 4 kg 4 kg 4 kg	-894
														233 233 233	
4092	-500 10485 - -2743	-500 -3995 -3995	-500 10485 -3258	-500 -9527 -2600	-500 -1305 891	-500 -8991 -1974	-500 -2342 -2342	-500 -9370 -3702	-500 -10054 -2946	-500 -10061 -3817	-500 -10186 -3689	-500 -10010 -451	-500 -9856 -3592	-500 -9895 -2121 -500	-7361
202	-149 -1 -	-149 -1 -	-149 -961 - 54	-149 -1288 -1841	-149 -3410 -1431	-149 -455 -4 535	-149 -4 -1797	-149 -3 176	-149 -41 -2358	-149 -225	-149 -178 -2215	-149 -157 -1653	-149 -2120	-149 -2547 -796 -149	-697
														336	

494 495 489 490 491 -249 -249 -249 2 65 2 65 294 294 294 294 294 294 294 294 4222 4222 4222 -294 -294 -294 -369 -369 -260 -369 -369 -369 -61 -61 -369 -369 117 117 163 117 905 117 -293 117 117 117 -784 117 359 -102 359 509 359 359 359 359 359 359 359 359 359 359 .1274 96 -1067 96 .321 96 96 -921 96 96 -2339 <del>5</del>8 96 -798 45 45 45 45 1143 45 45 -1394 45 45 394 394 .1693 394 3720 394 394 -949 394 8 8 8 394 394 1426 394 3986 394 275 275 275 275 279 275 275 275 1176 275 275 275 -531 275 275 275 -720 -720 -720 -720 -720 -3181 -720 -720 -720 -720 .3181 -720 336 -720 -720 -720 -942 -466 -1722 -466 -2362 -2362 -466 -1981 -466 -688 -688 -466 -466 -759 -466 -332 -1987 -1987 -1987 -1987 -106 -3112 -3112 -3112 -3113 -323 -106 -1378 -329 -106 -1378 -329 -106 -1378 -329 -106 -1378 -1378 -106 -1378 -1517 -381 -1917 -381 -1115 -1 233 8039 -2517 233 -8383 1639 233 -1127 -127 -228 233 -11527 -11527 -11527 -11527 -11527 -11627 294-1-49 297-1-49 338 340 341 341 342 343 344 345 347 348 347 348 347

535	536	537	538	539	940	145	542	568	920	179	572	573	574	575	
-815 -249	561 -249	-177 -249	-3531 -249	-3532 -249	-2806 -249	-2662 -249	-1539 -243	-3620 -250	1075 -249	3302 -249	-2324	-2088 -249	-2361	-3297 -249	
294	3597	353 294	4213 -294	4214	-3488 -294	-3420 -294	-2198 -269	-3808 -295	-2674	2248	-2971	2205 294	2000	-294 -294	
-2291 -369	-3301	-1720 -369	-611 -369	-1484 -369	-2925	-2848 -369	-1600 -375	-2263 -370	396 -369	-2449 -369	-2443 -369	1849 -369	-2478 -369	-3385 -369	
1630 117	-2599	-2560 117	229	-2497 117	-55 117	-1645	1175	-1074 117	-1017 117	-3036	-1317 <sup>-</sup>	-1321 117	-1330 117	-2286	
-3281 359	755 359	-911 359	359	529 359	1233 359	-1496 359	495 364	1540 359	-974 359	-3353 359	-1268 359	-1382 359	-1272 359	821 359	
-3539 96	-2512 96	-59 96	-1142 96	1503 96	474 96	-1539 96	-320 90	-3042 95	373 96	-3598 96	2615 96	808 86	1114 96	1116 96	
17 45	-531 45	-1802 45	¥ 4	1007 45	-1008 45	1497 45	202 51	-2759 45	-277 45	-3165 45	1215 45	995 45	1191 45	504 45	
4307 394	-3791 394	902 394	-1558 394	1382 394	1064 394	-2559 394	560 393	-2284 393	-2156 394	4225 394	-2432 394	-2521 394	394 394	-3421 394	
762 275	-246 275	167 275	1729 275	312 275	849 275	673 275	-219 279	-2079 277	-712 275	186 275	-982 275	-1174 275	-1002 275	-1971 275	
1430 -720	-2881 -720	725 -720	-3118 -720	-3120 -720	-2393 -720	-2368 -720	-1100 -715	-2716 -721	1101 -720	-2078 -720	975 -720	-1500 -720	-1947 -720	321 -720	/32
223 466	-3711 -466	-1746 -466	-1661 -466	-4047 -466	-1031 -466	<u>&amp;</u> &	-1999 -471	-3599 -466	-2473 -466	986 466	-2815 -466	-2303 -466	-2872 -466	672	Tabelle 4, Blatt 27/32
-3421 210	-705 210	785 210	739 210	* 967 210	-107 210	-962 210	1436 205	-3117 212	1705 210	-3727 210	723 210	869 210	1621 210	1798	rabelle 4
-2390 · -626	-1076 -626	4124 -626	-1612 -626	201 -626	-3373 -626	-3308 -626	-2015 -632	-3308 -627	-2487 -626	-2480 -626	-2875 -626	640 626	659 626		
232 106	-1378 -2380 106	-1378 -2259 106	-1378 -117 106	2190 106	-1467 -106	-64 -1205 106	4 <del>2</del> 5	-74 -2789 105	-248 -726 106	-1573 -1573 106	-134 -968 -106	-185 -166 -166	-145 -1023 106	-1694 -71 106 -1540	
98 98 98	-701 2389 399	-701 1244 399	-74 -1340 399	-1898 698 399	-1898 -614 399	4520 547 389	-5157 -1557 -407	4314 -1512	-2662 -2064 399	-5129 -4239 399	-3497 -2343 399	-5040 -2440 399	-3388 -2365 399	-532 -3328 -533 -538 -608	
. 484 -381	-1115 -253 -381	-1115 -92 -381	334 334 381	-1115 -4352 -381	-1115 -3623 -381	-1115 -3524 -381	-1115 -2289	-132 -3572	-2759 -2759 -381	-1115 1528	-1115 -3146 -381	-1115 -2536 -381	-1115 -3176 -381	-1115 -570 -381 -1115	
8 8	-894 -2134 43	\$ 4	-894 -1002 43	48 cc 4	-13 kg	-894 911 643	-894 972 40	3521	4 2 4	-894 -4013 -4013	2 8 8 4 2 8 8 4	489 1183 43	-894 727 43	-894 -1664 -43 -894	
4241	-11527 -986 -233	-11527 1550	7386 2080 2386 2386	-11457 -704	-1133 1598 233	2685	432 432	-2354 -3035	-8518 -292 292	-9503 1818	3 gg 4 gg	-9758 -1493	-9758 465 233	-9978 288 233 -11204	
2114	-10485 -3754 -500	-10485 -4070	-10485 -4029 -4029	-10415 -4031	-10415 -3304	-9537 -3241	-306 -8368 -1975	263- 4421-	-257 -2471	-8461 -2830	-8461 -2812 -2812	-8715 -2365	-8715 -2857	-8936 -3773 -500 -10162	
268 149	F - 8 5	237	542 543 543 543 543 543 543 543 543 543 543	45	-881 -881 -741	-1176 -1675	-143 -893 1055	3077	-147 -2640 837		1024	1389	-252 -252 -149	835 4 5 - 149 45	1
382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	ı

576	222	578	579	280	581	582	583	584	585	586	587	88 6	e e e	290	;
1959 -249	-3503 -249	-2908	-681	2319	-2900 -249	1656 -249	-503	-2822 -249	-2918 -249	578 -249	-3592 -249	2967	-249	877 -249	<b>4</b>
3543	-4184 -294	-3287 -294	-3175 -294	1884	-3267  -294	890 -294	870 -294	-3164	-294	2168	-294	-294	-294 -294	-294	
986 -369	-3619 -369	-2284 -369	-566 -369	-314	1282 -369	505 -369	-558 -369	-1289 -369	-2226 -369	-369	-1727 -369	-1344 -369	-1415 -369	1067 -369	
-116 117	495	-758 117	-2818 117	-794 117	257	-2851 117	. 653	-2821 117	2532 117	-2817 117	-287 117	-1418 117	4041 117	2168	
-750 359	-1394 359	-795 359	-3496 359	359	-142 359	-1749 359	-762 359	-3512 359	359	1072 359	999 359	116 359	-1285 359	19 359	,
-177 96	1325 96	-3454 96	-3952 96	-171 96	-3627 96	-4014 96	-3972 96	3983 96	-1461 96	1338 96	1482 96	-1750 96	437 96	-1081 96	
-2353 45	-526 45	1410 45	-750 45	-862 45	-3320 45	-3835 45	1015 45	-259 45	-3694 45	-3794 45	-56 45	356 45	-5548 45	-712 45	
-3925 394	-29 394	4253 394	-4466 394	4454 394	-4343 394	-4507 394	4472 394	4477 394	4463 394	4472 394	2750 394	-2792 394	-5195 394	4447 394	
-665 275	-2145 275	66 275	4034	1587 275	-1268 275	4102 275	4060 275	-1301 275	-3967 275	-1329 275	-524 275	540 275	4794 275	966 275	
-193 -720	797	2476	-1920 -720	924	571 -720	-1929 -720	2607 -720	1741	573 -720	1453 -720	-3180 -720	-1061 -720	-5871 -720	475	/35
530 466	-1778	2276 -466	585 466	417	185 	455 466	1293 466	2348 466	817	978	-1839 -466	-235 -466	-6793	-2578 -466	, Blatt 28
-838 210	2491	-3309 -2309 210	4122	4070	-1305 210	4215	4164	4181 210	4015 210	4168	-929 210	-1415 210	-6019 210	4034	rabelle 4, Blatt 28/32
1277	3 · - 40	-1220 -536	415	-1143 -626	886 -626	833 -626	2104	67	1241	-705 -705	-1792 -626	-1493 -626	-6578 -626	1500	
-2575 106	.353 -2167	85.55	-2148 -3284	-1378 -3266 106	-1378 -3108 106	-1378 -3317	-1378 -3292	-1378 1872	-1378 -3299	-1378 2392	-1378 -2252 106	-1378 -1460 106	-5627 -5627 106	-1378 -346 106	-1378
-1232	-2208 -3509	.699 -1419	88 <del>5</del> 8	.922 -922 399	-701 -765	-701 -458	2452 105- 105- 105- 105- 105- 105- 105- 105-	-701 -701 -701	272 272 862 863 863 863 863 863 863 863 863 863 863	-701 -1169	-707 -3593 399	-701 1324 399	3626 399	-701 -4395 399	-79
-3221	-1115 -4317	-381 -1115 -2836	-381 -1115 -2673	-1115 -260 -381	-1115 -2798 -381	-1115 2973	-361 -2661	-1115 1419	-381 -1115 -2774	-1115 -278 278	-1115 -4411 -381	-1115 277 -381	-1115 -6763 -381	-1115 -875 -381	-1115
<b>-864</b>	43 -525	-3531 -3531	-894 -4507	-894 -4442 -442	-894 -350	-894 -4620	5 88 6 5 88 6	488 4585 4585	4359 43	-894 -4569 -4569	24 89 45 43 89 45	-894 -1557 43	-894 -5491 43	-894 -4396 -43	-894
-879	233 11426 1738	233 11426 4113	233 -11489 -1809	233 -11527 -5068	-11527 -4410	-11527 . -5254	233 -11527 -5197	233 -11527 -5221	233 -11527 -4966	233 -11527 -5204	233 -11527 834 233	-590 -2115 233	-9952 -1531	-11627 -5019 -533	-11527
											-500 -10485 -4091 -500				
	•	•	•	•	-						-149				
397	398	399	64	404	405	. ' 64	6		. 406	. 407	408	, , 60 ,	410	# .	

591	592	593	594	595	296	597	298	299	009	601	602	603	604	909
-4852 -249	1877 -249	-5951 -249	4339	3906 -249	-6442 -249	1627 -249	-936 -249	1810 -249	1570 -249	382 -249	-3591 -249	638 -249	393 -249	258 -249
5170 -294	3440 -294	-294	-2816 -294	1026	-6941 -294	-294 -294	-4231 -294	2033	-4504 -294	2604 -294	-294 -294	4177 -294	-294 -294	1977
-587 -369	.369	2105	-6169 -369	-4336 -369	-5576	-3737 -369	-1215	-331 -369	-3889	-1236 -369	-1726 -369	-3615 -369	500 -369	-3583 -369
-483 117	-1390	232	-6976 117	-3584	4212 117	1067	-1030 117	-2813 117	404	-830 117	2247 117	424	473	-314
-885 359	-46 359	-6511 359	-6634 359	1462 359	525 359	-2525 359	-1370 359	359	49 359	-1247 359	744 359	-2402 359	-580 359	359 359
-5002 96	174 96	-7081 96	-6768 96	-3807 96	.53 96	-747 96	-265 96	-3927 96	-2699 96	445 96	-2341 96	-2243 96	-2233 96	533 96
4708 45	794 45	-6860 45	-538 45	1972 45	4749 45	1591 45	-1821 45	2001 45	-2104 45	413 45	-579 45	-162 45	613 45	-558 45
3885 394	-1071 394	-6917 394	-7240 394	4701 384	-38 394	-65 394	-3702 394	4456 394	-1378 394	4294 394	111 394	-3587 394	.566 394	394
-4554 275	-493 275	-6819 275	-5995 275	46 275	4169 275	-2247 275	-542 275	-844 275	-2448 275	-1012 275	301 275	1846 275	48 275	1373 275
-3960	-2214 -720	. 268 -720	1996 -720	4070 -720	: -5927 -720	-3206 -720	1023 -720	905 -720	-3405 -720	3600	-225 -720	-3083 -720	-3073 -720	113 -720 3/32
-1705	159 466	-3594 -466	-5320 -466	-4822 -466	-6784 -466	4131 466	-1825 -466	4 <del>4</del> 56 6	-1667 -466	4 %	-2200 -466	4009	4000	-3977 -466 - Blatt 29/32
-1470 210	467 210	* -6962 210	-7401 210	-3410 210	-5288 -5288 210	-1860 210	-681 210	-4078 210	-2183 210	-3495 210	-238	-51	326 210	1214 210 Tabelle 4,
-4375	\$04 \$26	3284 -626	-6013 -626	4733	-6677	4185 -626	4056	1638	4291	-1113	-1155 -676	4063	4054	
4650	-1378 -2866 106	-7004 106	-1378 -309 106	-1378 -3510	-1378 -4973 106	-1378 1940 106	-1378 -2271	-1378 58 108	-1378 664	-1378 -3056	-2299 177 106	-1378 -131		-305 -166 -166 -262
-1375	-701 -4097 399	-701 -7166	-701 -7386	-701- -1214	3298 3298	.361 165 261	25- 1292 1292 1292	-701- -141-	2854 2854	-701 -114	.328 -367	2430 2430	-2391 1631	.2391 489. 399 -2590
4778	323 323 381	-1115 262 381	-1115 2309	-1115 -4183	-381 -4115 -6820	-1241 -1241	-115 -618 -618	-1115 1571	4563	-115 308 308	4406	-361 -1115 75	-1115 601	-1115 -4283 -381 -1115
-5211	-894 -3127	-894 -7027	-7856 -7856	-894 -3359	4 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	.894 1526 4	3238 3238	-894 -1279	.984 982 982 983	-894 -1922	8 8 4 5 5 5	5 4 6 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	3 8 5 5 5 6 5 5	.894 .877 .43 .894
-5545	733 -733	11527 -7370	7502 -7502	.3604 -3604	233 727 633	2070 2070	251- 7521- 1660-	-11527 -5079	-11527 618	233 4914 -1486	-11479 1128	833	-1464 1222 1223	233 233 -851
														-500 -3961 -500 -10334
														-149 -30 -127 -149
412	413	- 414	- 415	- 416	. 417	418	- 419	- 420	- 421	- 422	423	- 424	. 425	426

909	209	909	612	614	. 615	616	617	627	629	631	632	633	634	635	
863 -249	-2458 -249	-251	-1511 -251	-2217	1948	-5251 -249	-2736	-1201 -250	-1909	750	-3284 -249	448	-712 -249	-3390	
294	-3148 -294	3918	1890 -296 -296	-2898	-2990	-6158 -294	-3243  297	-1662 -295	-2412 -295	-3874	-294	-294 -294	4045 -294	-294 -294	
773	-2586 -369	-2248 -369	496 -369	972 -369	-2055 -369	-5704 -369	-2164 -362	304	-1484 -370	-3252 -369	312 -369	-3437 -369	-1038 -369	-3504 -369	
-1675 117	1160	-1240	-1319 122	-1186 117	-552 117	4304	1385 118	1361	-987 117	-2257 117	-946 117	-976 - 117	700 117	410	
-256 359	452 359	834 358	-1790 359	1202 359	-2445 359	-3918 359	-873 358	-734 359	-970 360	-912 359	214 359	-1148 359	-213 359	683 359	
-2642 96	-1217 96	967 94	-2009 94	651 96	-2508 96	88 88	-1831 93	-925 96	-1362 95	-2078 96	-2142 96	2733 96	540 96	96 96	
-294 45	-650 -45	-489 47	-1651 44	649 45	ස ද	-3099 45	-1234 43	-536 45	-939 45	-320 45	59 45	\$ \$	486 45	-122 45	•
-708 394	689 394	-2373 394	191 392	-2315 394	1008 394	3905 394	-2118 394	-1864 394	-2133 395	-3404 394	-3467 394	3481 394	3499 394	-187 394	
-2687 275	1862 275	-940 277	-2001 276	-858 275	-2452 275	-2764 275	3091 278	2411 277	2383 277	766 275	2472 275	-2032 275	291 275	449 275	
970 -720	-2058 -720	-1750 -722	-656 -722	930	-1775 -720	-5374	-2184 -723	403	3596 -721	-2762	-2818 -720	-2922 -720	-2944 -720	1209	132
-1506 -466	-2980 -466	-2635 -468	353	-2727	-1281 -466	6026 466	3025	-1043 466	-2033 -466	-705 -466	-1918 -466	-267	-3856 -466	48	Tabelle 4, Blatt 30/32
-2665 210	263	778	-1845	772	2179	1184	. 1441 209	. 19-	-1029	345	-1645	-1638 210	786	280 210 *	abelle 4
1132 -626	-3037	-2639 -628	2094	-2778	980	6205	-2894 -623	1389	-1815	915	69 4	-3861	945	-3948 -626 •	
-2061 106	-151- -1106 -1106	8 8 8 5	-1564 -1564	g & & &	-1003 -2211 -2211	-250 -3437	-98 -1529 112	38. 128. 128. 128.	54.5	-1945 -1977	39.428	-311 -2049 -2049	-312 -2067	-189 -2056 106	<del>8</del>
1540 399	-3333 736	4938 -2279	428 383 383 484 484 484 484 484 484 484 48	4205	-997 -1180	2650 -1353	.3963 1519	-5349 -1618	-3801 956	45 4. 15 4.24 8.86 8.86 8.86 8.86 8.86 8.86 8.86 8.8	.2057 -1132	-2369 -1288	.2362 303	-3026 -3026 339	-1934
1776	-3283 -3283	-301 -1115 -2928	-378 -1254 -1448	888 989 989 989	511- 86 86	-338 -6338	-381 -1115 -3143	-262 -771-	4184 2142 142	-377 -4987 492	-381 -381	-1115 -4126	-361 -1115 -977	-381 -201 -381	-1115
408	-894 1104	648 648	4 <del>2</del> <del>2</del> 4	-18 907	-894 -2324	4 88 6 4 88 6	-894 -1067	42 -2592 -725	\$ \$ <b>\$</b> \$	26. 46	8 8 8	3 8 5	-894 1293 5	-894 -1724 -43	-89 <del>4</del>
-3572	-2033 -465	233 -2391 1871	-9685 1505	4066 176	233 -9771 ·	233 -10893 168	£ 8 5 5	232 -2204 -1115	-2440 -1081	232 -8465 2713	-1161 -139	-11234 -136	233 -11269 -2291	233 -11297 -130 233	-3060
														-50 -10255 -50 -50 -50	
														458 458 458 458	
427	428	. 429		431	432	433	434	 435	. 436		438	439	, ·′ <del>8</del>	4 .	•

636	637	638	. 639	640	641	642	643	644	. 659	099	661	662	663	664
-3152 -249	1195 -249	1654 -249	-3442 -249	227 -249	2123 -249	670 -249	-640 -249	-2951 -244	-1787 -249	-2595 -249	402 -249	2663 -249	-3359 -249	853 -249
-3759 -294	2049	4459 -294	4124	1707	-3725	4147	4048 -294	-3640 -261	-2141 -294	-3255	2785	-3560 -294	4041 2294	4154
-3065 -369	-1510 -369	-515 -369	-723 -369	-1049 -369	-1416 -369	-804 -369	-3486 -369	-3079 -378	-78 -369	-2651 -369	-1752 -369	-2769 -369	-383 -369	-527 -369
365	-1039 117	33	-503 117	-2401 117	832	-812 117	982	739 125	1793 117	700	-885 117	-2290 117	205	-962 117
196 359	-1188 359	-3268 359	1074 359	359	-520 359	-1403 359	-483 359	360	1106 359	444 359	-1428 359	451 359	175 359	-2393 359
-577 96	871 96	-3734 96	716 96	86 88 88	-2447 96	609 609	1382 96	698 94	88 88	477 96	-3406 96	1402 96	179 96	170 96
-1624 45	683 45	-908 45	599 45	-1774 45	-585 45	1063 45	1106 45	-1143 42	-2483 45	-871 45	-710 45	140 45	2036 45	1711 45
-3452 394	1881 394	-823 394	-1468 394	275 394	-3681 394	74 394	-3460 394	-3027 385	-3340 394	-26 394	4004 384	-1131 394	37	.831 394
2087	908 275	-3820 275	1286 275	-2203 275	-506 275	1233 275	-738 275	1526 274	-2784 275	994 275	-3463 275	-2198 275	227 275	-137 275
2480 -720	1222 -720	1178 -720	-3030 -720	-2706 -720	855 -720	-3053 -720	-235 -720	-2550 -701	910 -720	512 -720	224 -720	-2394 -720	-120 -120	-3057 -720 1/32
4. 466	-3762 -466	18 -466	-1627 -466	-3541 -466	-505 -466	3980 466	-292 -466	-3473 -473	120 466	648 466	1807 466	-1777 -466	-244 -466	-358 -3 -466 - 1, Blatt 31/32
-1675 210	-1532 210	-3923 210	967 210	* -1827 210	-113 210	\$98 210	913 210	-283 -214	715 210	914 210	. 44 210	824 210	612 210	105 210 Tabelle 4,
-749 -626	* -1353 -626	-952 -626	-1114 -626	-1653 -626	749-626	4035 -626	-1451 -626	-3530 -633	-73 -626	-3058 -626	183 -626	590 -626	-277 -277 -626	
•	•	-												-1071 597 106 -297
-713 399	-3527 -151 399	-1708 248 399	-1427 -979	-2734 170	-2217 -3595 399	-1655 -3465	-2571 -1034 399	-3170 -61	-3286 -3286 399	-3750 -2656	-981 -3947	-1730	-524 -1336 399	-932 -1165 399 -2427
589	-1115 -4059 -381	-1115 1165	-1115 779	-115 -133 -133	-1115 -1115 -381	-1115 28 284	4115	-1115 -3776	-188 -157 -158	-1115 318 318	-115 28 28	-1115 1305	-1115 -1115 -4178 -381	-1115 -381 -381 -1115
-27	-894 227 43	-894 4321	5 8 E E	5 88 5 5 88 5	-894 1427	8 8 8	-894 716 43	89.28	-3030 -3099 -43099	-894 1702	1 4 4 - 4	-894 -1946	-894 480 480 433	909 43 894 894
1165	-11162 -781 -787	-11162 -1427	-11264 624	4899 1602 283	-11304 267	-11331 -282 33	23.58	2309 2309 2309 2309	-2132 -3708 -3708	372 372	4412 4412	-11056 -2499	2891 39	-11256 -624 233 -11399
-3504	-300 -10119 -3751	-10119 -2472	-300- -3941,	-500 -10311 2734	-300 -10262 -3417	-3964 -3964	-10337 -3864	-3458 -3458	-1480 -1691	-9234 1159	-500 -9312 -2335	-10014 -3251	-500 -10101 -3858	-306 -10214 -3966 -500 -10357
-848	2 2 2 5	2 4 4 5	2. 2. 8. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4. 4.	-149 -50 812	134 2	-2 497	-149 -117 	-149 -618 -1976	-147 -1274 -159	- 4 <del>4</del> 4 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	24- 46- 1669	277	-149 -210 -950 -450	728 728 -149 -2
442	443	₹	44	446		, , 4	. 449	. 450	. 451	. 452	. 453	454	455	- 456 -

999	999	199	899	699	029	671	672
493 -249	-721 -249	-564 -249	-2822	-249	333	-2821 -249	-5419
2949 449	4164	956	3165	-3513	4275 -294	1583	-5467
805 -369	-3602 -369	-3603	405 -369	1203	-3714	212 -369	-5825
-2705	102	246	-2817 117	-373	-1440	403	4930 *
-107 359	497 359	926 359	-1315 359	-610 359	879 359	-646 359	-5184
-3867 96	-298 96	667 96	1634 96	-3103 96	69 96 69 66	-3971 96	3918
-3689 45	1327 45	-578 45	<del>\$</del> <del>&amp;</del>	4 8 8	-79 45	-3790 45	483
4361 394	394 394	459 394	394	4111 394	565 394	-4471 394	-5670
-3956 275	-992 275	753 275	4058 275	1311 275	810 275	4058 275	4432
-1794 -720	-115 -720	-3070 -720	2808 -720	-2294 -720	-3181 -720	-1910 -720	<b>∞ •</b>
377 466	-2375 -466	-3997 -466	1812 -466	4 466	-518 -466	1067 466	.5643 *
-1564 210	2057 210	1359 210	4160 210	-2790 210	-609 210	-1193 210	-2098 -2098
2992. -626	-250	± -4052 -626	-193 -626	1522 -626	4164 -626	959 -626	-1505
-3183. 106	-297 -2141	-297 -2141	-3104 -3291	-1378 -2791 106	-1378 1287 106	-1378 -3291 106	-1378 2106 *
-1573	.2427 -3482 399	-2427 961	-1787 -1787	-701 -1460 399	562 298 399 399	-701 -2059 399	-701 -5764
-188	-1115 -4301	-1115 4302 4302	-1115 -2662	-1115 -3135	-1115 -4413 -381	-1115 2589	-1115 -6756
4470	3 8 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	4 8 8 6	4559 4559	-894 -2942	28 58 5	28- 48- 48- 48- 48- 48- 48- 48- 48- 48- 4	-894 -1531 •
-5105	233 -11399 870	-11399 -2356	-11399 -5193	-11527 -1889 	-11527 -352 -352	-11527 -5195	-11527 -6219 -6219
-2591	-500 -10357 -3980	-500 -10357 -3981	-500 -10357 504	-300 -10485 -3114	-10485 -4092 -2092	-300 -10485 -2707	-500 -10485 -5869 -
	•	•	-				-149 -5309 * *
457	458		460	461	. 462		464

. Tabelle 4, Blatt 32/32

### SEQUENZPROTOKOLL

<110>-Bayer-CropScience GmbH

### <120> Pflanzen mit erhöhter Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klässe 3

<130> BCS 03-5005

<140>

<141>

<160> 6

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1004

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

### <400> 1

tcaaactagt cacaaccagt ccatttctgg aggtcgttcc ttcgcagaaa tactgattgg 60 taacteettg gggaaateet ecatateaca agagteatta ettagagget getegttaca 120 caagatgatc agattaatta catctacaat tggtggtcat gcatacctca acttcatggg 180 caatgaattt ggtcacccaa agagagtaga gtttccaatg tcaagcaaca atttctcctt 240 ttcactggct aaccgtcgct gggatctatt ggaagatgtt gtacattatc aattgttctc 300 atttgataag ggtatgatgg acttggataa aaatgggaga attttgtcca gaggtcttgc 360 caacattcac catgicaatg atactaccat ggtgatttct tacttgagag gtcccaatct 420 ctttgtgttc aactttcatc ctgtcaattc atatgaaaga tacattatag gtgtggaaga 480 agctggagag tatcaagtca cattaaatac agatgaaaac aagtatggtg gtagaggact 540 acttggccat gatcagaata ttcaaagaac cattagtaga agagctgatg gaatgagatt 600 ttgcttggaa gtgcctctgc caagtagaag tgctcaggtc tacaagttga cccgaattct 660 aagagcatga tcactctagt aatcaaagtg cctcatatga tgacacaaaa ggaaaggttc 720 tacattgccc ttacactgat caatattgac acctttccga ggtgagtttc tgtgattctt 780 gagcagactg ttggctagtc aattatcatg aacttttgcc ttcagcatcc ggatagtcgc 840 ttctcctgtg caatgagggc atggacgaat ttttttttgg cttgtcatgg gggtcataag 900 catccgccag attaagattt cacaggcctc gagtaaaacc atcacttact ttaaggatac 960 1004 acaaacacac caacggggtg caggctctga taccttctaa agtg

<210> 2

<211> 2096 .

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

#### <400> 2

aacaatgete tetetgtegg atteaatteg aatttettea ceattgageg attetegtet 60

```
tagttttcta tctcaaaccg gaagcagaac cagtcgccag cttaaatttg ttcgcagccg 120
ccgggctcga gtttcgaggt gtagatgctc agcaacggag caaccgccac cgcaacgacg 180
gaagcaacga ccggagaagt acaaacagtc ggaggaaggg aaaggaatcg atcctgttgg 240
attteteage aaataeggea ttaeteataa agegtttget caatttette gtgaaagata 300
taaatcattg aaggacttga aggatgaaat attgactcgt catttcagtc tcaaggagat 360-
gtotactggg tatgaattaa tgggtatgca togcaacata caacatogag tggatttott 420
ggaatgggct ccaggtgctc gctactgtgc tctgattggt gacttcaatg ggtggtcaac 480
aactggtaac tgtgccagag agggtcattt tggtcatgac gattatgggt attggtttat 540
tattettgaa gataaattae gtgaaggaga agaacetgat aaattgtatt tteaacagta 600
caattatgcg gaggactatg gtaaaggtga cacgggtatt accgtcgagg aaatctttaa 660
aaaagcaaat gatgagtatt gggaacctgg agaagatcgc ttcattaaat cacgttatga 720
ggtggcagca aagttatatg aggaaatgtt cggaccaaat ggacctcaaa cagaagagga 780
actagaagca atgcctgatg cagctacacg atacaaaact tggaaagagc aacaaaaaga 840
ggatccggca agcaatttgc catcgtatga tgtggtagat agtggaaaag aatatgatat 900
ttacaatatt ataggtgatc ctgaatcgtt taagaaattt cgtatgaaac agcctcctat 960
tgcttactgg ttagaaacta aaaagggaag gaaaggctgg ttacagaaat atatgcctgc 1020
tttacctcat ggaagcaaat acagggtgta ttttaacaca ccaaatgggc ctcttgaacg 1080
agtteetgeg tgggeeaatt ttgteattee agatgeagge gggatggeat tageagteea 1140
ttgggaacca cctcctgaat atgcttataa atggaaacac aagctaccag tcaagcctaa 1200
gtccttgcgc atatatgaat gtcatgttgg catctctggc caggaaccaa aagtttcatc 1260
tttcaatgat tttattagca aggtccttcc gcatgtaaaa gaagctggat acaatgcaat 1320
acaaattatt ggagttgttg agcacaagga ttatttcact gttggatata gagtgaccaa 1380
tttttatgct gttagtagcc gttatggcac accggatgac ttcaagcgct tggttgatga 1440
agcacatggg cttggactgc ttgtcttttt ggagattgtg cactcttatg cagcagcaga 1500
tgaaatggtt gggttatctc tttttgatgg agcaaatgat tgctatttcc acactggtaa 1560
acgtggacac cacaaattet ggggcacacg gatgttcaaa tatggagate ttgatgttet 1620
gcactttctt ctttcaaatc tgaactggtg ggtggaggag tatcatgtcg atggcttcca 1680
ttttcattcg ctctcgtcca tgttgtatac gcataatgga tttgcttcat ttactggtga 1740
catggatgaa tactgtaacc aatatgttga caaggaggcc ttattgtacc tcatattagc 1800
aaatgaagta ttacatgctc ttcatcctaa tgtgatcacg attgctgagg atgcaactct 1860
gtatcctgga ctctgcgatc caacatctca aggtggactg ggctttgatt attttgccaa 1920
tetttetgee teagagatgt ggettgeatt acttgaaaat acteetgate atgaatggtg 1980
catgagtaag attgttagca cattagtggg cgatagacaa aatactgata aaatgctttt 2040
gtatgcagaa aatcacaacc agtccatttc tggaggtcgt tccttcgcag aaatac
<210> 3
<211> 3204
<212> DNA
<213> Solanum tuberosum
<220>
<221> CDS
<222> (99)..(2804)
<400> 3
gaattgtaat acgactcact atagggcgaa ttgggccctc tagatgcatg ctcgagcggc 60
```

# cgccagtgtg atggatatct gcagaattcg gcttaaca atg ctc tct ctg tcg gat 116 ... Met Leu Ser Leu Ser Asp

		•			•					٠.	. Me	t Le	u Se	r.Le	u Se	er Asp		•
			- ···· .		•			<del></del>				1		,	<b></b>	5	:	
	tca	att"	cqa`	att	tct	tca-	cca-	ttg	agc	gat	tct	cgt	ctt	agt	ttt	cta	164	
_			_		ser					•		_		_				
			5	1.0					15	<b>-</b>		5		20				
	•					•	•											
	tet	caa	acc	aaa	agc	aga	acc	agt.	cac	cag	ctt	aaa	ttt	att	cac	age	212	
					Ser									-		٠.		• •
			25	1		5		30					35					
							•											
	cac	caa	act	cga	gtt	tca	agg	tat	ача	tac	tca	qca	acq	qaq	caa	ccq	260	
	_		_													Pro .		•
	9	40		5	7		45	-2		-4		50						
		20									-						,	
	cca	cca	саа	cga	cgg	aaa	caa	cga	cca	gag	aaq	tac	aaa	caq	tca	gag	308	•
		_		_	Arg													
	55			5	3	60		5			65	-2-				70		•
	,55		•							•								
	σаа	gag	aaa	gga	atc	qat	cct	att	qqa	ttt	ctc	aqc	aaa	tac	qqc	att	356	
	_				Ile													W.
			_1 -	1	75					80	•		•	•	85		·	اره د ۱ اوړو
								•										
	act	cat	aaa	gcg	ttt	gct	caa	ttt	ctt	.cgt	gaa	aga	tat	aaa	tca	ttg	404	
						•										Leu		
			_	90				•	95					100				
	•															•		3
	aag	gac	ttg	aag	gat	gaa	ata	ttg	act	cgt	cat	ttc	agt	ctc	aag	gag	452	· · · · · ·
	Lys	Asp	Leu	Lys	Asp	Glu	Ile	Leu	Thr	Arg	His	Phe	Ser	Leu	Lys	Glu		. 4
			105					110		•			115					
	atg	tct	act	ggg	tat	gaa	tta	atg	ggt	atg	cat	cgc	aac	ata	caa	a cat	500	
	Met	Ser	Thr	Gly	Tyr	Glu	Leu	Met	Gly	Met	: His	Arg	Asn	Ile	Glr	1 His		,
		120				•	125					130	)					
							•											•
	cga	gtg	gat	tto	ttg	gaa	tgg	gct	cca	ggt	: gct	: cgc	tac	: tgt	gct	ctg	548	
	Arg	y Val	. Asp	Phe	Leu	Glu	Trp	Ala	Pro	Gly	/ Ala	Arg	ј Туг	Cys	ala a	a Leu		•
	135	5				140	)				145	5				150	•	
			•															
•	att	ggt	gac	: ttc	aat	999	tgg	tca	aca	act	ggt	aac	tgt:	ge	aga	a gag	596	
	Ile	Gly	, Asr	Phe	Asn	Gly	Trp	Ser	Thi	Th:	r Gly	Ası	і Суя	s Ala	a Arg	g Glu		
											_					_		

175 180

ggt cat ttt ggt cat gac gat tat ggg tat tgg ttt att att ctt gaa Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr Trp Phe Ile Ile Leu Glu

_			_	_	gga Gly	_	_		_		_					692
			-		gac					_						740
	-				aaa Lys 220											788
_	_				tca Ser											836
_	-				aat Asn											884
_		_	_	_									Gln		aaa Lys	932
_	-	Pro	_	_			Pro					Val			gga Gly	980
	Glu					Asn					Pro				aag Lys 310	1028
					Glr					Туз					aaa Lys	1076
_				Gl					туз					ı Pro	cat His	1124
	_		s Hi					e Ası					y Pro		t gaa u Glu	1172
_	_	l Pro	-				n Ph					p Al			g atg y Met	

			•				٠.											٠.	
	gca t																	,	·
	Ala L																		
	375	• • ••	····			380			•	•	385	• : •	· · · ·			390			
	aaa c	ac a	ag	cta	cca	gtc	aag	cct	aag	tcc	ttg	cgc	ata	tat	gaa	tgt	13:	16	. '
٠-	Lys H	is L	ys	Leu	Pro	Val	Lys	Pro	Lys	Ser	Leu	Arg	Ile	Tyr	Glu	Cys			•
	-4		-		395					400					405				
								•											
	cat g	++ c	ac	atc	tct	aac	caq	qaa	cca	aaa	qtt	tca	tct	ttc	aat	gat	: 13	64	,
	His V																		•
	urs A	ar (	_	410		U-1			415					420		_			
				410									•						
	ttt a								at a	222	<b>~</b> 22	act	aaa	tac	aat	acs	14	12	
	Phe I	(le	Ser	Lys	Val	ьeu	Pro			пув	GIU	нта			ASII		•		
		•	425					430					435						
									•								- 94		
	acg (																	60	
	Thr	Gln	Ile	Ile	Gly	Val	Val	. Glu	His	Lys	Asp	Tyr	Phe	Thr	Va1	. <b>G</b> 1	Y		
		440					445	;				450		•					
	•																		
	tat																	508 <sup>-</sup>	
	Tyr .	Arg	väl	Thr	Asn	Phe	туз	: Ala	a Val	Ser	: Ser	Arg	туг	: Gly	Thi	: Pr	0	<i>:</i>	
	455	_	•			460	)				465	5				47	0	<i>:</i> .	
																		<i></i>	
	gat	gac	ttc	aac	cac	: ttg	ggti	t gat	t gaa	a gca	a cat	= ggg	g cti	gge	ct	g ct	t 1	556	
	Asp	Asp	Phe	Lvs	Arc	ı Lei	ı Va	l As	p Gl	ı Ala	a His	s Gly	, Le	ı Gly	Le	ı Le	:u	. • [•]	
	пор				475			_	-	48					48			!	
																		<u>.</u>	
	ata	+++	tto	. aac	a ati	t at	о са	c to	c ta	t ac	a qc	a qca	a ga	t ga	a at	g gt	:t 1	604	
														p Gl				:	
	Val	PHE	neu	490					49					50					
				49(	,					_									
						L	<b>.</b>				+ +~	c ta	<b>-</b>	c ca	c ac	t a	at 1	652	
	999	tta	tct	CT	ב ככ	t ga	r gg	a gc	a aa	c ya	- 0.	c ca	- Dh	c ca	e Th	r G	iv		•
	Gly	Leu			u Ph	e As	b GT			n As	рсу	e TA	51	e Hi	S 11.	U.	-1		
			509	5				51	.0				31	. <b>.</b>					
															· 		~- 1	700	
	aaa	cgt	gga	a ca	c ca	.c <sub>.</sub> aa	a tt	c to	<b>1</b> 3 35	c ac	a cg	g at	g ct	c aa	d T8	g	ya . 1	L700·	
	Lys	Arg	Gl	y Hi	s Hi	s Ly	rs Ph	ie Tr	.p G1	y Th	ır Ar			ne Ly	s TŽ	/r G	тĀ		
		520	ı				52	25				53	0						
	•									•									
٠	gat	cct	ga	t gt	t ct	g ca	ac ti	tt ct	t ct	t to	ca aa	at ct	g aa	ac to	g to	39 g	tg :	1748	
	Asp	Pro	As	p Va	l Le	eu Hi	is Pl	he Le	eu Le	eu Se	er As	an Le	eu As	sn Ti	p T	cp V	al		
	535						10					15					50		
									,										
	gag	gac	ı ta	t ca	at gt	tc ga	at g	gc t	tc c	at t	tt ca	at to	cg c	tc to	gt	cc a	tg	1796	
	Glu	Gli	1 Tv	r Hi	is Va	al A	sp G	ly P	he H	is P	he H	is Se	er L	eu S	er S	er M	let .	•	
	010		1			55	_	-			60					65			•

	tat -												_	_	_	1844
Leu	Tyr	Thr		Asn	Gly	Phe	Ala		Phe	Thr	Gly	Asp	Met	Asp	Glu	
			570		•			575		•			580			
tac	tgt	aac	caa	tat	att	gac	aaq	gag	acc	tta	tta	tac	 ete	ata.	tta	1892
	Cys	-						•							~.	
•	-	585		•		•	590					595			200	
gca	aat	gaa	gta	tta	cat	gct	ctt	cat	cct	aat	gtg	atc	acg	att	gct	1940
Ala	Asn	Glu	Val	Leu	His	Ala	Leu	His	Pro	Asn	Val	Ile	Thr	Ile	Ala	
	600					605					610					
	gat															1988
Val	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Pro	Gly	Leu	Cys	Asp	Pro	Thr	ser	${\tt Gln}$	Gly	
615					620					625					630	
	ctg										_			_		2036
Gly	Leu	Gly	Phe		Tyr	Phe	Ala	Asn		Ser	Ala	Ser	Glu	Met	Trp	
				635		•			640					645		
a++	~~~			~~~							•	<b>.</b>		•		
	gca Ala													_	_	2084
пеп	MIG	Leu	650	Giu	ASII	THE	PIO	655	HIS	GIU	Trp	Сув		ser	ràs	,
			0,50					033					660			
att	gtt	agc	aca	tta	qtq	qqc	qat	aga	caa	aat	act	gat	aaa	ato	ctt	2132
	Val													_		
		665				-	670					675	•			•
ttg	tat	gca	gaa	aat	cac	aac	cag	tcc	att	tct	gga	ggt	cgt	tcc	'ttc	2180
Leu	Tyr	Ala	Glu	. Asn	His	Asn	Gln	Ser	Ile	Ser	Gly	Gly	Arg	Ser	Phe	
	680					685					690					
	gaa															2228
	Glu	Ile	Leu	Ile		Asn	Ser	Leu	Gly		Ser	Ser	Ile	Ser		
695					700					705					710	
~~~	*	40 Mar				<b>.</b>	<b>.</b>									
	·tca												-			2276
Giu	Ser	neu	цец	715	GIY	Cys	ser	rea		гуя	Mec	TTE	Arg		TIE	
				/13					720					725		
aca	tct	 aca	att	aat.	aat	cat.	gca	tac	ctc	aac	ttc	ato	aac	 aat	gaa	2324
	Ser														-	2324
		,	730	- 4	4			735					740			
ttt	ggt	cac	cca	aag	aga	gta	gag	ttt	cca	atg	tca	agc	aac	aat	ttc	2372
	Gly															
	_	745		-	_		750					755				

							·									•		
	tcc	ttt	tca	ctg	gct	aac	cgt	cgc	tgg	gat	cta	ttg	gaa	gat	gtt	qta	2420	_
						•			•						Val			٠.
												770						
												. •	_					
	-cat-	tat-	-caa-	tta	ttc	tca	ttt	-gat-	-aag	gat	atg	atg	·gac	ttg	gat-	aaa	2468-	
	His	Tyr	Gln	Leu	Phe	ser	Phe	Asp	Lys	Asp	Met	Met	`Asp	Leu	Asp	Tys	<del></del> -	_
	775					780					785					790		
	,																	
	aat	999	aga	att	ttg	tcc	aga	ggt	ctt	gcc	aac	att	cac	cat	gtc	aat	2516	
	Asn	Glý	Arg	Ile	Leu	Ser	Arg	Gly	Leu	Ala	Asn	Ile	His	His	Val	Asn		
	•				795					800					805			
	gat	act	acc	atg	gtg	att	tct	tac	ttg	aga	ggt	ccc	aat	ctc	ttt	gtg	2564	
	Asp	Thr	Thr	Met	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	Arg	Gly	Pro	Asn	Leu	Phe	Val		
				810					815					820				
																	•	
	ttc	aac	ttt	cat	cct	gtc	aat	tca	tat	gaa	aga	tac	att	ata	ggt	gtg	2612	
	Phe	Asn	Phe	His	Pro	Val	Asn	Ser	Tyr	Glu	Arg	Tyr	Ile	Ile	Gly	Val		
			825					830					835		_			
	gaa	gaa	gct	gga	gag	tat	caa	gtc	aca	tta	aat	aca	gat	gaa	aac	aag	2660	
													_	_	Asn	_	د. ار	. · 
		840					845					850	_			-		
																		:
	tat	ggt	ggt	aga	gga	cta	ctt	ggc	cat	gat	cag	aat	act	caa	aga	acc	2708	٠,
	Tyr	Gly	Gly	Arg	Gly	Leu	Leu	Gly	His	Asp	Gln	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr		:¹ ::
	855					860					865					870		
																	-	
	att	agt	aga	aga	gct	gat	gga	atg	aga	ttt	tgc	ttg	gaa	gta	cct	ctg	2756	<i>:</i> :
	Ile	Ser	Arg	Arg	Ala	Asp	Gly	Met	Arg	Phe	Cys	Leu	Glu	Val	Pro	Leu		:
					875					880					885			
	cca	agt	aga	agt	gct	cag	gtc	tac	aag	ttg	acc	cga	att	cta	aga	gca	2804	
	Pro	Ser	Arg	Ser	Ala	Gln	Val	Tyr	Lys	Leu	Thr	Arg	Ile	Leu	Arg	Ala		
				890					895					900	_			
	tga	tcac	tct	agca	atca	aa g	tgcc	tcat	a tg	atca	caca	aaa	ggga	agg	ttct	acattg	2864	
•																J		
	ccc	ttat	act	gacc	aata	tt g	tggc	cttt	c cg	aggt	gagt	ttc	tgtg	att	cttg	agcaca	2924	
															_	_	•	
	ggc	 tgtt	ggc	tagt	cagt	ta t	catg	aact	t tt	gcct	tcag	cat	ctgg	ata	agcq	cttctc	2984	
										_								
	ctg	tgca	atg	aggg	catg	ga c	gaaa	tttt	t tt	ggtt	cgtc	atq	ggaq	tca	aaaa	catctg	3044	
	_		-		_					-	_	_			,	3		
	cca	gatt	aag	attt	caca	.gg c	ctca	agta	a aa	ccat	cact	tac	ttad	gat	acac	aaacac	3104	
			_				-	_					-3					
	atc	aacg	ggg	tgca	ggct	ct g	atac	cttc	t aa	agtg	aagc	cga	atto	caq	caca	ctggcg	3164	
		_				_					_	-		_				

.

<210> 4 <211> 902 <212> PRT <213> Solanum tuberosum <400> 4 Met Leu Ser Leu Ser Asp Ser Ile Arg Ile Ser Ser Pro Leu Ser Asp 10 5 Ser Arg Leu Ser Phe Leu Ser Gln Thr Gly Ser Arg Thr Ser Arg Gln 25 20 Leu Lys Phe Val Arg Ser Arg Arg Ala Arg Val Ser Arg Cys 40 35 Ser Ala Thr Glu Gln Pro Pro Pro Gln Arg Arg Lys Gln Arg Pro Glu 55 · Lys Tyr Lys Gln Ser Glu Glu Glu Lys Gly Ile Asp Pro Val Gly Phe 70 Leu Ser Lys Tyr Gly Ile Thr His Lys Ala Phe Ala Gln Phe Leu Arg 90 Glu Arg Tyr Lys Ser Leu Lys Asp Leu Lys Asp Glu Ile Leu Thr Arg 105 100 His Phe Ser Leu Lys Glu Met Ser Thr Gly Tyr Glu Leu Met Gly Met 125 115 His Arg Asn Ile Gln His Arg Val Asp Phe Leu Glu Trp Ala Pro Gly 135 130 Ala Arg Tyr Cys Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Ser Thr Thr 160 150 145 Gly Asn Cys Ala Arg Glu Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr 170 165 Trp Phe Ile Ile Leu Glu Asp Lys Leu Arg Glu Glu Glu Pro Asp

Lys Leu Tyr Phe Gln Gln Tyr Asn Tyr Ala Glu Asp Tyr Asp Lys Gly

200

180

195

185

190

·	Thr 210	Gly	Ile 	Thr	Val	Glu 215	Glu	Ile	Phe	Lys	Lys 220	Ala	Asn 	Asp	Glu	
Tyr 225	Trp	Glu	Pro <sub>.</sub>	Gly	Glu 230	Asp	Arg	Phe	Ile	Lys 235	Ser	Arg	Tyr	Glu	Val	··· -
Ala	Ala	Lys	Leu	Tyr 245	Glu	Glu	Met	Phe	Gly 250	Pro	Asn	Gly	Pro	Gln 255	Thr	•
Glu	Glu	Glu	Leu 260	Glu	Ala	Met	Pro	Asp 265	Ala	Ala	Thr	Arg	Tyr 270	Lys	Thr	
Trp	Lys	Glu 275	Gln	Gln	Lys	Lys	Asp 280	Pro	Ala	Ser	Asn	Leu 285	Pro	Ser	Tyr	
Asp	Val 290	Val	Asp	Ser	Gly	Lys 295	Glu	Tyr	Asp	Ile	Tyr 300	Asn	Ile	Ile	Gly	
Asp 305	Pro	Glu	Ser	Phe	Lys 310	Lys	Phe	Arg	Met	Lys 315	Gln	Pro	Pro	Ile	Ala 320	
Tyr	Trp	Leu	Glu	Thr 325		Lys	Gly	Arg	330	Gly	Trp	Leu	Gln	. Lys 335	Tyr	•
Met	Pro	Ala	1 Leu 340		His	Gly	Ser	Lys 345	His	Arg	Val	туг	9he		Thr	
Pro	Asn	Gly 355		Leu	Glu	Arg	Val 360		Ala	Trp	Ala	Asn 365		e Val	lle	
Pro	Asp 370		a Asp	Gly	Met	Ala 375		. Ala	Val	His	380		Pro	) Pro	) Pro	
Glu 385		Ala	а Ту	c Lys	3 <sub>,</sub> 90		His	Lys	Leu	395		Lys	Pro	D Lys	s Ser 400	
Leu	Arg	J Ile	е Ту	r Glu 405		; His	Val	. Gly	1le 410		Gly	, Glr	ı Glı	u Pro 41:	o Lys	
Val	Se	r Se:	r Ph		n Ası	Phe	· Ile	Ser 425		val	L Lei	ı Pro	43		l Lys	.:_
Glı	ı Ala	a Gl 43	-	r Ası	n Ala	a Thi	Glr 440		e Ile	e Gly	y Val	1 Va:		u Hi	з Lуз	
Ası	о Ту 45		ė Th	r Va	l Gl	y Ty:		g Val	l Thi	r As	n Pho 46		r Al	a Va	l Ser	

	Ser	Arg	Tyr	Gly	Thr	Pro	Asp	Asp	Phe	Lys	Arg	Leu	Val	Asp	Glu	Ala
	465			• •	•	470					475					480
								-								
	His	Gly	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Leu	Glu	Ile	Val	His	Ser	Tyr	Ala
					485					490					495	
٠.	-					• ,			-							
	Ala	Ala	Asp	Glu	Met	Val	Gly	Leu	Ser	Leu	Phe	Asp	Gly	Ala	Asn	Asp
				500					505					510		
	Cys	Tyr	Phe	His	Thr	Gly	Lys	Arg	Gly	His	His	Lys	Phe	Trp	Gly	Thr
	_		515					520					525			
	Arq	Met	Phe	Lys	Tyr	Gly	Asp	Pro	Asp	Val	Leu	His	Phe	Leu	Leu	Ser
	_	530		-	-	_	535		_			540				
	Asn	Leu	Asn	Trp	Tro	Val	Glu	Glu	Tvr	His	Val	Asp	Gly	Phe	His	Phe
	545				_	550			•		555	•	•			560
	His	Ser	Leu	Ser	Ser	Met	Leu	Tvr	Thr	His	Asn	Glv	Phe	Ala	Ser	Phe
					565			-,-		570		2			575	
					505					0.0						
	<b>ም</b> ከታ	Glv	Δsn	Met	Δen	Glu	ጥህ ዮ	Cvs	Asn	Gln	Tvr	Val	Asn	īvs	Glu	Ala
	LILL	Gry	App	580	vsħ	Gru	- Y -	Cys	585	GIM	-7-	V (41	тыр	590	O_Lu	ALG
				500					505					,		
	Lou	Len	The same	T.OU	Tla	T.ess	A1 =	Aan	Gl.,	Va I	T.e.u	Wie	Δla	T.A11	Wie	Pro
	пеп	пец	595		TTC	пеп	ALG	600	GIU	Val	пец	MIS	605		1113	110
			223					600					003			
	70	17-7	<b>T</b> 1_	mb se	T 7 -	77 -	17-7	7.00	7 J -	mb ~	T 011	The e	Dro			Cira
	ASII		TTE	THE	116	Ald		Asp	Ald	1111	Leu			дту	пец	Cys
		610					615					620				
			m1		~7	<b>~</b> 1	<b>0</b> 7	T	<b>~</b> 1	Dh.	7	Ma ana	. Dh.	- N T -	3	T
	_	Pro	Thr	ser	GIII	_	_	ьеи	GTÅ	Pile			PHE	AId	ABII	Leu
	625					630					635	•				640
	_		_			_	_		_	_			1-		_	•
	Ser	Ala	Ser	GLu			Leu	Ala	Leu			ı Asn	ırnr	Pro		His
					645					650	•				655	
															_	
	Glu	Trp	Cys			ŗÀa	Ile	Val			Leu	ı Val	. Gly			Gln
				660					665					670	)	
									_	_						
	Asn	Thr		_	Met	Leu	. Leu	_	-	Glu	ı Asr	His			. Ser	Ile
			675	i				680			•		685	5		
	Ser	Gly	Gly	Arg	Ser	Phe	Ala	Glu	Ile	. Let	ı Ile	e Gly	/ Asi	ı Sei	Let	ı Gly
		690					695	i				700	)			
	Lys	Ser	Ser	: Ile	Ser	Gln	Glu	Ser	Lev	Lei	ı Arç	g Gly	Cys	s Sei	Let	ı His
	705					710	)				715	3				720

Lys Met Ile Arg Leu Ile Thr Ser Thr Ile Gly Gly His Ala Tyr Leu
725 730 735

Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Lys Arg Val Glu Phe Pro

. In the second community was a supply and the second community of the second

740 745 750

Met Ser Ser Asn Asn Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Arg Arg Trp Asp
755 760 765

Leu Leu Glu Asp Val Val His Tyr Gln Leu Phe Ser Phe Asp Lys Asp 770 775 780

Met Met Asp Leu Asp Lys Asn Gly Arg Ile Leu Ser Arg Gly Leu Ala
785 790 795 800

Asn Ile His His Val Asn Asp Thr Thr Met Val Ile Ser Tyr Leu Arg 805 810 815

Gly Pro Asn Leu Phe Val Phe Asn Phe His Pro Val Asn Ser Tyr Glu 820 825 830

Arg Tyr Ile Ile Gly Val Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Gln Val Thr Leu 835 840 845

Asn Thr Asp Glu Asn Lys Tyr Gly Gly Arg Gly Leu Leu Gly His Asp 850 855 860

Gln Asn Thr Gln Arg Thr Ile Ser Arg Arg Ala Asp Gly Met Arg Phe 865 870 875 880

Cys Leu Glu Val Pro Leu Pro Ser Arg Ser Ala Gln Val Tyr Lys Leu 885 890 895

Thr Arg Ile Leu Arg Ala 900

<210> 5

<211> 3047

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

<220>

<221> CDS

<222> (5)..(2710)

<400> 5

aaca atg ctc Met Leu 1					cca ttg agc Pro Leu Ser 15	49
gat tot ogt o						97
Asp Ser Arg I	20		25		30	
cag ctt aaa t Gln Leu Lys l						145
	35		40	_	45	
tgc tca gca						193
Cys Ser Ala ' 50	Thr Glu G	ln Pro Pro 55	Pro Gln 1	Arg Arg Lys 60	Gln Arg Pro	
gag aag tac	aaa caq to	cq qaq gaa	ggg aaa g	gga atc gat	cct gtt gga	241
Glu Lys Tyr 65						
						000
ttt ctc agc Phe Leu Ser						289
80		85		· 90	95	
					ata ttg act	337
Arg Giu Arg	100	er Leu Lys	105	The Walt Gin	Ile Leu Thr 110	
cgt cat ttc	agt ctc a	ag gag atg	tct act	ggg tat gaa	tta atg ggt	385
Arg His Phe	Ser Leu L	ys Glu Met	Ser Thr	Gly Tyr Glu	Leu Met Gly	
				the the goa	taa aat aa	433
		_			tgg gct cca Trp Ala Pro	433
130		135	i	. 140	)	
					tgg tca aca Trp Ser Thr	481
145	-11-	150		155	• •	
					gat tat ggg	529
Thr Gly Asn 160		Arg Glu Gly 165	y His Phe	Gly His Asp 170	Asp Tyr Gly	
	att att	ntt daa dat	t aaa tta	cat ass as	a gaa gaa cct	577
	Ile Ile 1		p Lys Leu	Arg Glu Gl	y Glu Glu Pro	
	180		185		190	

					•												•	
	gat	aaa	ttg	tat	ttt	caa	cag	tac	aat	tat	gcg	gag	gac	tat	ggt.	aaa	625	
												Glu						
				195					200_	•				205.				•
	•									<del></del> -		•		-a				
	~~+	~~~		~~-	·									•				
																gat	673	
	GIA	Asp		GIA	Ile	Thr	Val	Glu	Glu	Ile	Phe	Lys	Lys	Ala	Asn	Asp		
			210					215					220			•		
								•										
	gag	tat	tgg	gaa	cct	gga	gaa	gat	cgc	ttc	att	aaa	tca	cgt	tat	gag	721	
												Lys						
		225	-		•	-	230	•				235			-1-			
												455						
	ata	aas	<b>~~</b>	224	++-	+-+	~~~	~~~										
												cca					769	
		Ala	Ala	пув	ren		GIU	GIU	Met	Phe		Pro	Asn	GIA	Pro	Gln		
	240					245					250					255		
	aca	gaa	gag	gaa	cta	gaa	gca	atg	cct	gat	gca	gct	aca	cga	tac	aaa	817	
	Thr	Glu	Glu	Glu	Leu	Glu	Ala	Met	Pro	Asp	Ala	Ala	Thr	Arg	Tyr	Lys	•	
					260					265					270			
	act	taa	aaa	gag	caa	caa	aaa	gag	gat	cca	gca	agc	aat	tta	cca	tea	865	
												Ser				_	865	
	~		-7.5	275	<b></b>		Lys	OLU	280	210	·AIG	Ser	Wett		PLO	per		
				275					200					285				
																	1	
												att					913	
	Tyr	Asp		Val	Asp	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Asp	Ile	Tyr	Asn	Ile	Ile	. i	
			290					295					300				3	
	ggt	gat	cct	gaa	tcg	ttt	aag	aaa	ttt	cgt	atg	aaa	cag	cct	cct	att	961	
	Gly	Asp	Pro	Glu	Ser	Phe	Lys	Lys	Phe	Arg	Met	Lys	Gln	Pro	Pro	Ile		
		305					310					315					·	
														•			•	
	act	tac	t.aa	tta	gaa	act	aaa	aan	aas	acc	د د د	ggc	taa	++5	<b>~~</b>	222	1000	
												Gly					1009	
	320	-1-			OLU	325	nys	Дуо	GLY	Arg		GIY	пр	пеп	GIII	-		
	320					323					330					335		
												agg					1057	
	Tyr	Met	Pro	Ala	Leu	Pro	His	Gly	Ser	Lys	Tyr	Arg	Val	Tyr	Phe	Asn		
					340					345					350			
•	aca	cca	aat	ggg	cct	ctt	gaa	cga	gtt	cct	gcg	tgg	gcc	aat	ttt	gtc	1105	-
												Trp						
				355				_	360					365		<b>-</b>		
						•								J-0-3				
	a++	000	<b>~</b> =+	aus	aac	~~~	-+-		<b></b> -				<b>.</b>					
												cat					1153	
	тте	PLO		ATG	GTĀ	GTĀ	met		Leu	Ala	Val	His		Glu	Pro	Pro		
			370					375					380					

													•				
	cct	gaa	tat	gct	tat	aaa	tgg	aaa	cac	aag	cta	cca	gtc	aag	cct	aag	1201
	Pro	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Lys	Trp	Lys	His	Lys	Leu	Pro	Val	Lys	Pro	Lys	
		385					390					395					
	tcc	ttq	cqc	ata	tat	gaa	tgt	cat	gtt	ggc	atc	tct	ġgc	cag	gaa	cca	1249
		_	-						Val		<b></b>						
	400		3			405	•			-	410		-			415	
	222	att	tra	tet	ttc	aat	gat	ttt	att	agc	aaq	atc	ctt	cca	cat	gta	1297
		-							Ile								
	шуз	V (4.1.	001	001	420					425					430		
					420												
		~	-a+	<b>~~</b>	t a.c.	a a t	aca	ata	caa	att	att	aaa	att	att	gag	cac	1345
		_							Gln								
	гуѕ	GIU	Ala		тУт	ASII	ALG	116	440	116	1	OLY	•41	445		1110	
				435					440					112			
								<b>+</b> ~ +	200	a+a	300	22t	+++	tat	act	att	1393
	_	_							aga								1333
	ГЛS	Asp	_		Thr	vaı	СТА		Arg	vai	TIII	Abu	460		АТа	val	
			450					455					460				
																~	1441
									gac								
	Ser			Tyr	GTA	Thr			Asp	Pne	гÀг			val	ASP	GIU	
		465					470					475	•				
												4_ 4_					1400
	_															tat	1489
			Gly	Leu	Gly			. Val	. Phe	Leu			e vai	. Hls	. ser	Tyr	
	480	)				485					490	)				495	
																a aat	1537
	Ala	Ala	a Ala	Asp			Val	. Gl	, Leu			ı Phe	e Asr	O GTZ		a Asn	
					500	)				505	•				510	)	
	gat	tg:	tat	tto	cac	act	: ggt	: aaa	a cgt	: gga	cac	cae	c aaa	a tto	tg:	g ggc	1585
	Asp	Су:	з Туз	: Phe	e His	Thr	: Gly	Ly			His	s Hi	в Гуз			o Gly	
				515	5				520	)				52!	5		
																t ctt	
	Th	r Ar	g Met	t Phe	≥ Ly:	з Туз	c Gly	/ As	p Lei	ı Ası	val	l Le	u Hi	s Ph	e Le	u Leu	
			53	0				53	5				54	0			
							-			-	٠ _	_					
_																c cat	
	Se	r As	n Le	u As	n Tr	p Trj	o Va	l Gl	u Glı	ı Ty	r Hi	s Va	l As	p Gl	y Ph	e His	
		54	5				55	0				55	5				
																t tca	
	Ph	e Hi	s Se	r Le	u Se	r Se	r Me	t Le	u Ty	r Th	r Hi	s As	n Gl	y Ph	e Al	a Ser	•
	56	0				56	5				57	0				575	i

	•	·												•			
	ttt	act	ggt	gac	atg	gat	gaa	tac	tgt	aac	caa	tat	gtt	gac	aag	gag	1777
	Phe	Thr	Glý	Asp	Met	Asp	Glu	Tyr	Cys	Asn	Gln	Tyr	Val <sup>-</sup>	Asp	Lys	Glu	
					580			-	.,				<u>-</u>	-	_		
							•		•	•				•			
		FFS	FF C	"Fab	ctc	ata	++-			~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	ores.	++5	-03F	act-	<del></del>	cat	1825
	_		_					_			_			_			1023
	ата	ren	Leu	_	ьeu	Île	Leu	Ата		GIU	vaı	ьеи	HIS		Leu	HIS	
				595					600					605			
	cct	aat	gtg	atc	acg	att	gct	gag	gat	gca	act	ctg	tat	cct	gga	ctc	1873
	Pro	Asn	Val	Ile	Thr	Ile	Ala	Glu	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Pro	Gly	Leu	
			610	•				615					620				
																	•
	tac	gat	cca	aca	tct	caa	aat	qqa	cta	qqc	ttt	gat	tat	ttt	qcc	aat	1921
	_					Gln			_								
	٠,٠	625				<b></b>	630	<b>-</b> _,		<b>5</b> -7		635	-1-				•
		023					030					055					
																	1060
						atg			•								1969
		Ser	Ala	Ser	GIu	Met	Trp	Leu	Ala	Leu		GIU	Asn	Thr	Pro	_	
	640					645					650					655	·
											•						
	cat	gaa	tgg	tgc	atg	agt	aag	att	gtt	agc	aca	tta	gtg	ggc	gat	aga	2017
	His	Glu	Trp	Cys	Met	Ser	Lys	Ile	Val	Ser	Thr	Leu	Val	Gly	Asp	Arg	₹.
			٠.		660					665					670		
	caa	aat	act	gat	aaa	atg	ctt	tta	tat	qca	qaa	aat	cac	aac	caq	tcc	2065
•				_		Met				_	_						3
	<b>U</b>			675	_				680					685			•
				0,5					000					003			* 3
							<b></b>										2222
					_				_		_					ttg -	2113
	He	Ser	_	_	Arg	ser	Phe		GIu	IIe	Leu	lle			Ser	Leu	١
			690					695					700	•			
															•		
	999	aaa	tcc	tcc	ata	tca	caa	gag	tca	tta	ctt	aga	ggc	tgc	tcg	tta	2161
	Gly	Lys	Ser	Ser	Ile	Ser	Gln	Glu	Ser	Leu	Leu	Arg	Gly	Cys	Ser	Leu	
		705					710					715	i				•
									•					•			
	cac	aag	atg	ato	aga	tta	att	aca	tct	aca	att	ggt	ggt	cat	gca	tac	2209
	His	Lys	Met	Ile	Arg	Leu	Ile	Thr	Ser	Thr	Ile	Gly	Gly	His	Ala	Tyr	
	720	•				725					730	_	-			735	
	ctc	-2-2-0	++-	. sto		: aat			aa+	Can		- 220	, 247	a+ -	<b>G</b> 20	. +++	2257
							_				•	_	_	_			4631
	ьeu	ASI	. PUE	: Met	-		. GIV	r hve	. сту			тλε	ATO	ya1		Phe	
					740	)				745	1				750	1	
	cca	atg	tca	ago	aac	aat	tto	: tec	ttt	tca	ctg	gct	aac	: cgt	cgc	tgg	2305
	Pro	Met	: Ser	: Sei	: Asr	ı Asr	Phe	Ser	Phe	: Ser	Lev	Ala	a Asr	a Arg	Arg	Trp	
				755	5				760	•		•		765			•

gat cta ttg q Asp Leu Leu (							2353
ggt atg atg g Gly Met Met 7 785							2401
gcc aac att Ala Asn Ile 800	-						2449
aga ggt ccc Arg Gly Pro				His Pro			2497
gaa aga tac Glu Arg Tyr						Val Thr	2545
tta aat aca Leu Asn Thr 850	_		Gly Gly				2593
gat cag aat Asp Gln Asn 865					Asp Gly		2641
ttt tgc ttg Phe Cys Leu 880		Leu Pro					2689
	att cta aga Tle Leu Arq 900		a <b>tc</b> actct	agtaatc	aaa gtgc	ctcata	2740
tgatgacaca	aaaggaaagg	ttctacat	tg ccctt	acact ga	tcaatatt	gacacctti	tc 2800
cgaggtgagt '	ttctgtgatt	cttgagca	ga ctgtt	ggcta gt	caattatc	atgaactt	tt 2860
gccttcagca	tccggatagt	cgcttctc	ct gtgca	atgag gg	catggacg	aattttt	tt 2920
	tgggggtcat						
accatcactt	actttaagga	tacacaaa	ca cacca	acggg gt	gcaggctc	tgatacct	
taaagtg							3047

### <213> Solanum tuberosum

	A	^	^		_
<	4	u	O	>	<b>b</b>

Met Leu Ser Leu Ser Asp Ser Ile Arg Ile Ser Ser Pro Leu Ser Asp

1 10 15

Ser Arg Leu Ser Phe Leu Ser Gln Thr Gly Ser Arg Thr Ser Arg Gln
20 25 30

Leu Lys Phe Val Arg Ser Arg Arg Ala Arg Val Ser Arg Cys Arg Cys 35 40 45

Ser Ala Thr Glu Gln Pro Pro Pro Gln Arg Arg Lys Gln Arg Pro Glu
50 55 60

Lys Tyr Lys Gln Ser Glu Glu Gly Lys Gly Ile Asp Pro Val Gly Phe 65 70 75 80

Leu Ser Lys Tyr Gly Ile Thr His Lys Ala Phe Ala Gln Phe Leu Arg
85 90 95

Glu Arg Tyr Lys Ser Leu Lys Asp Leu Lys Asp Glu Ile Leu Thr Arg 100 105 110

His Phe Ser Leu Lys Glu Met Ser Thr Gly Tyr Glu Leu Met Gly Met 115 120 125

His Arg Asn Ile Gln His Arg Val Asp Phe Leu Glu Trp Ala Pro Gly
130 135 140

Ala Arg Tyr Cys Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Ser Thr Thr 145 150 155 160

Gly Asn Cys Ala Arg Glu Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr 165 170 175

Trp Phe Ile Ile Leu Glu Asp Lys Leu Arg Glu Gly Glu Glu Pro Asp
180 185 190

Lys Leu Tyr Phe Gln Gln Tyr Asn Tyr Ala Glu Asp Tyr Gly Lys Gly
195 200 205

Asp Thr Gly Ile Thr Val Glu Glu Ile Phe Lys Lys Ala Asn Asp Glu 210 215 220

Tyr 225	Tı	p	Gl	<b>u</b> 1	Pro	Gly		lu 2 30	Asp	Ar	g E	he	Ile	Ly 23		er	Arg	<b>T</b> YY	· G		Va:	
Ala	A.	la 	Ĺу	s :	Leu	Tyr 245		lu	Glu	Ме	ŧ I	Phe	Gly 250		O P	sn	Gly	Pro		1n 55		r
Glu	G	lu	G)		Leu 260	Glu	ιA	la	Met	Pr		Asp 265	Ala	Al	la 7	Chr	Arg	Туі 2 <sup>.</sup> 70		ys	Th	r
Trp	L	ys		Lu 75	Gln	Glr	ı L	ys	Glu	As 28		Pro	Ala	a Se	er i	Asn	Leu 285		o S	Ser	ту	T
Asp		al 90	V	al	Asp	Se	r C	Зlу	Lys 295		lu	Tyr	Asj	p II		Туr 300	Asn	11	e I	[le	G)	·Y
Asp 305		ro	G	lu	Ser	Ph		Նչs 310	Lys	; P]	he	Arg	Me		ys 15	Gln	Pro	Pr	o :	Ile	A]	la 20
Туг	- 1	crp	L	eu	Glu	1 Th 32		Lys	Lys	₃ G	ly	Arg	Ъу 33		ly	Trp	Lev	2 G1		Lys 335		ľΣ
Met	<b>.</b> }	Pro	) <b>7</b> 4	la	Le:		ю :	His	Gl	y S	er	<b>Lys</b> 345		r A	rg	Va]	Ту	c Pł 35		Asn	. <b>T</b>	hr
Pro	<b>5</b> 2	Asr		31y 355		o L∈	u	Glu	Ar		/al	Pro	A]	a T	rp	Ala	36		he	Val	. I	le
Pro		As) 37(		Ala	Gl;	y GI	Ly	Met	Al 37		Leu	Ala	a Va	al F	lis	Tr)	p Gl 0	u P	ro	Pro	P	ro
G1 <sup>-</sup>		Ту	ri	Ala	. Ту	r Ly	ys	Trg 390		s I	His	Ly	s L		Pro 395		l Ly	s P	ro	Ly		er 00
Le	u	Ar	g	Ile	э Ту		lu 05	Cys	s Hi	.s ¹	Val	. Gl		le :	Ser	G)	y Gl	n. G	lu	Pr:	o I 5	ာ်γဒ
Va	1	Se	r	Se	r Ph 42		sn	Asj	o Pl	ıe	Ile	e Se 42		ys	Val	. Le	u Pr		lis 30	Va	1 1	ŗуs
Gl	Lu	Al	.a	Gl;		r A	sn	Al	a Í		Glı 440		e I	le	Gly	y Va	al Va	al (	31u	Hi	ន៍ :	Lys
As	qг	Ту 45		Ph	e Tì	nr V	al	G1		yr 55	Ar	g Va	al T	hr	Ası		ne T	yr 1	Ala	. Va	1	Ser
	er 65	Aı	g	ту	r G	ly T	hr	Pr 47		ap	Άs	p Pl	ne l	ŗys	Ar:		eu V	al /	Asţ	G]	.u	Ala 480

His	Gly	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Leu	Glu	Ile	Val	His	Ser	Tyr	Ala
	•			485			• •		490		<b></b> · · .			495	<b>-</b> · ·

				485		·		•	490					495	
 Ala	Ala	Asp	Glu	Met	Val	Gly	Leu	Ser	Leu	Phe	Asp	Gly	Ala	Asn	Asp
			500					505					510	-	
Cys	Tyr	Phe 515	His	Thr	Gly	Lys	Arg 520	GlŸ	His	His	Lys	Phe 525	Trp	Gly	Thr
Arg	Met 530	Phe	Lys	Tyr	Gly	Asp 535	Leu	Ąap	Val	Leu	His 540	Phe	Leu	Leu	Ser
Asn 545	Leu	Asn	Trp	Trp	Val 550	Glu	Glu	туг	His	Val 555	Asp	Gly	Phe	His	Phe 560
His	Ser	Leu	Ser	Ser 565	Met	Leu	Tyr	Thr	His 570	Asn	Gly	Phe	Ala	Ser 575	Phe
Thr	Gly	Asp	Met 580	Asp	Glu	Tyr	Сув	Asn 585	Gln	Tyr	Val	Asp	<b>Бу</b> в 590	Glu	Ala
Leu	Leu	Tyr 595	Leu	Ile	Leu	Ala	Asn 600	Glu	Val	Leu	His	Ala 605	Leu	His	Pro
Asn	Val 610		Thr	Ile	Ala	Glu 615	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr 620	Pro	Gly	Leu	Сув
Asp 625		Thr	Ser	Gln	Gly 630	Gly	Leu	Gly	Phe	Asp 635	_	Phe	Ala	Asn	Leu 640
Ser	Ala	Ser	Glu	Met 645	Trp	Leu	Ala	Leu	Leu 650		Asn	Thr	Pro	Asp 655	His
Glu	Trp	Cys	Met 660	Ser	Lys	Ile	Val	Ser 665		Leu	Val	Gly	Asp 670	_	Gln
Asn	Thr	675	_	Met	Leu	Leu	Tyr 680		Glu	Asn	His	Asn 685		Ser	Ile
Ser	690	-	Arg	g Ser	Phe	Ala 695		Ile	· Leu	Île	Gly 700		Ser	Leu	Gly
Lys 705		Ser	: Ile	e Ser	710		. Ser	Leu	. Lev	715	_	Cys	Ser	Leu	His 720
Lys	Met	: Ile	e Arg	725		Thr	Ser	Thr	730	_	gly	Hie	a Ala	735	Leu

Asn	Phe	Met	Gly	Asn	Glu	Phe	Gly	His	Pro	Lys	Arg	Val	Glu	Phe	Pro
			740					745					750		

- Met Ser Ser Asn Asn Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Arg Arg Trp Asp
  755 760 765
- Leu Leu Glu Asp Val Val His Tyr Gln Leu Phe Ser Phe Asp Lys Gly 770 775 780
- Met Met Asp Leu Asp Lys Asn Gly Arg Ile Leu Ser Arg Gly Leu Ala 785 790 795 800
- Asn Ile His His Val Asn Asp Thr Thr Met Val Ile Ser Tyr Leu Arg 805 810 815
- Gly Pro Asn Leu Phe Val Phe Asn Phe His Pro Val Asn Ser Tyr Glu 820 825 830
- Arg Tyr Ile Ile Gly Val Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Gln Val Thr Leu 835 840 845
- Asn Thr Asp Glu Asn Lys Tyr Gly Gly Arg Gly Leu Leu Gly His Asp 850 855 . 860
- Gln Asn Ile Gln Arg Thr Ile Ser Arg Arg Ala Asp Gly Met Arg Phe 865 870 875 880
- Cys Leu Glu Val Pro Leu Pro Ser Arg Ser Ala Gln Val Tyr Lys Leu 885 890 895

Thr Arg Ile Leu Arg Ala 900

PCT/EP2004/010984

# This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS
IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
☐ FADED TEXT OR DRAWING
BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
SKEWED/SLANTED IMAGES
☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
□ OTHER:

# IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.